

- copolymerization of 3-*O*-benzyl-6-*O*-ethyl/methyl- α -D-glucopyranose 1, 2, 4-orthopivalates and their structure-property relationships. *Cellulose* 16, 1179-1185 (2009).
- 124) Kamitakahara, H., Funakoshi, T., Takano, T., Nakatsubo, F.: Syntheses of 2, 6-*O*-alkyl celluloses: influence of methyl and ethyl groups regioselectively introduced at *O*-2 and *O*-6 positions on their solubility. *Cellulose* 16, 1167-1178 (2009).
- 125) Kamitakahara, H., Funakoshi, T., Nakai, S., Takano, T., Nakatsubo, F.: Synthesis and structure/property relationships of regioselective 2-*O*-, 3-*O*- and 6-*O*-ethyl celluloses. *Macromol. Biosci.* 10, 638-647 (2010).
- 126) Sakakibara, K., Takano, T., Nakatsubo, F.: Synthesis of methylcellulose model copolymers with heterogeneous distribution and their solution properties. *Cellulose* 18, 105-115 (2011).
- 127) Nakatsubo, F. "Chemical synthesis of cellulose", Marcel Dekker, Inc., New York, NY, 2001.
- 128) Sugihara, J. M., Wolfrom, M. L.: 2-Methylcellulose. *J. Am. Chem. Soc.* 71, 3509-3510 (1949).
- 129) Nakagawa, A., Ishizu, C., Sarbova, V., Koschella, A., Takano, T., Heinze, T., Kamitakahara, H.: 2-*O*-Methyl- and 3, 6-di-*O*-methyl-cellulose from natural cellulose: Synthesis and structure characterization. *Biomacromolecules* 13, 2760-2768 (2012).
- 130) Kondo, T.: Preparation of 6-*O*-alkylcelluloses. *Carbohydr. Res.* 238, 231-240 (1993).
- 131) Kondo, T., Nojiri, M.: Characterization of the cleavage of β -glucosidic linkage by *Trichoderma viride* cellulase using regioselectively substituted methylcelluloses. *Chem. Lett.* 1003-1006 (1994).
- 132) Nojiri, M., Kondo, T.: Application of regioselectively substituted methylcelluloses to characterize the reaction mechanism of cellulase. *Macromolecules* 29, 2392-2395 (1996).
- 133) Kondo, T.: The relationship between intramolecular hydrogen bonds and certain physical properties of regioselectively substituted cellulose derivatives. *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* 35, 717-723 (1997).
- 134) Nakagawa, A., Fenn, D., Koschella, A., Heinze, T., Kamitakahara, H.: Synthesis of diblock methylcellulose derivatives with regioselective functionalization patterns. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* 49, 4964-4976 (2011).
- 135) Kondo, T., Gray, D. G.: The preparation of *O*-Methyl-celluloses and *O*-Ethyl-Celluloses having controlled distribution of substituents. *Carbohydr. Res.* 220, 173-183 (1991).
- 136) Sekiguchi, Y., Sawatari, C., Kondo, T.: A facile method of determination for distribution of the substituent in *O*-methylcelluloses using $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy. *Polym. Bull. (Berlin, Ger.)* 47, 547-554 (2002).
- 137) Liu, H. Q., Zhang, L. N., Takaragi, A., Miyamoto, T.: Phase transition of 2, 3-*O*-methylcellulose. *Polym. Bull.* 40, 741-747 (1998).
- 138) Kern, H., Choi, S., Wenz, G., Heinrich, J., Ehrhardt, L., Mischnick, P., Garidel, P., Blume, A.: Synthesis, control of substitution pattern and phase transitions of 2, 3-di-*O*-methylcellulose. *Carbohydr. Res.* 326, 67-79 (2000).
- 139) Kamitakahara, H., Koschella, A., Mikawa, Y., Nakatsubo, F., Heinze, T., Klemm, D.: Syntheses and comparison of 2, 6-di-*O*-methyl celluloses from natural and synthetic celluloses. *Macromol. Biosci.* 8, 690-700 (2008).
- 140) Isogai, A., Ishizu, A., Nakano, J.: Preparation of tri-*O*-benzylcellulose by the use of non-aqueous cellulose solvents. *J. Appl. Polym. Sci.* 29, 2097-2109 (1984).
- 141) Isogai, A., Ishizu, A., Nakano, J.: Preparation of tri-*O*-substituted cellulose ethers by the use of a nonaqueous cellulose solvent. *J. Appl. Polym. Sci.* 29, 3873-3882 (1984).
- 142) Isogai, A., Ishizu, A., Nakano, J.: Preparation of tri-*O*-alkylcelluloses by the use of a nonaqueous cellulose solvent and their physical characteristics. *J. Appl. Polym. Sci.* 31, 341-352 (1986).
- 143) Itoh, T., Suzuki, H., Miyamoto, T.: Thermal properties and monolayer films of cellulose alkyl ethers. *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.* 70, 132-143 (1992).

- 144) Basque, P., de, G. A., Rondeau, P., Ritcey, A. M.: Monolayers of cellulose ethers at the air-water interface. *Langmuir* **12**, 5614-5619 (1996).
- 145) Kondo, T., Gray, D. G.: Facile method for the preparation of tri-*O*-(alkyl)cellulose. *J. Appl. Polym. Sci.* **45**, 417-423 (1992).
- 146) Sachinvala, N. D., Winsor, D. L., Hamed, O. A., Maskos, K., Niemczura, W. P., Tregre, G. J., Glasser, W., Bertoniere, N. R.: The physical and NMR characterizations of allyl- and crotylcelluloses. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **38**, 1889-1902 (2000).
- 147) Sachinvala, N. D., Hamed, O. A., Winsor, D. L., Niemczura, W. P., Maskos, K., Parikh, D. V., Glasser, W., Becker, U., Blanchard, E. J., Bertoniere, N. R.: Characterization of tri-*O*-methylcellulose by one- and two-dimensional NMR methods. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **37**, 4019-4032 (1999).
- 148) Petzold, K., Klemm, D., Heublein, B., Burchard, W., Savin, G.: Investigations on structure of regioselectively functionalized celluloses in solution exemplified by using 3-*O*-alkyl ethers and light scattering. *Cellulose* **11**, 177-193 (2004).
- 149) Okamoto, E., Kiyosada, T., Shoda, S.-I., Kobayashi, S.: Synthesis of alternately 6-*O*-methylated cellulose via enzymic polymerization of a substituted cellobiosyl fluoride monomer catalyzed by cellulase. *Cellulose* **4**, 161-172 (1997).
- 150) Izumi, R., Suzuki, Y., Shimizu, Y., Fujita, M., Ishihara, M., Noguchi, M., Kobayashi, A., Shoda, S.-I.: "Synthesis of artificial oligosaccharides by polycondensation of 2'-*O*-methyl cellobiosyl fluoride and mannosyl-glucosyl fluoride catalyzed by cellulase", Transworld Research Network, Trivandrum, India, 2009, pp. 45-67.
- 151) Xu, D. G., Edgar, K. J.: TBAF and cellulose esters: unexpected deacylation with unexpected regioselectivity. *Biomacromolecules* **13**, 299-303 (2012).
- 152) Xu, D. Q., Voiges, K., Elder, T., Mischnick, P., Edgar, K. J.: Regioselective synthesis of cellulose ester homopolymers. *Biomacromolecules* **13**, 2195-2201 (2012).
- 153) Iwata, T., Azuma, J. I., Okamura, K., Muramoto, M., Chun, B.: Preparation and n.m.r. assignments of cellulose mixed esters regioselectively substituted by acetyl and propanoyl groups. *Carbohydr. Res.* **224**, 277-283 (1992).
- 154) Schatz, C., Lecommandoux, S.: Polysaccharide-containing block copolymers: synthesis, properties and applications of an emerging family of glycoconjugates. *Macromol. Rapid Commun.* **31**, 1664-1684 (2010).
- 155) Ceresa, R. J.: The synthesis of block and graft copolymer of cellulose and its derivatives. *Polymer* **2**, 213-219 (1961).
- 156) Steinmann, H. W.: Novel cellulosics and segmented copolymers, US3386932A.
- 157) Steinmann, H. W.: Elastomeric fibers from cellulose acetate. *Polym. Prepr., Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.* **11**, 285-290 (1970).
- 158) Kim, S., Stannett, V. T., Gilbert, R. D.: A new class of biodegradable polymers. *J. Polym. Sci. Polym. Lett.* **11**, 731-735 (1973).
- 159) Kim, S., Stannett, V. T., Gilbert, R. D.: Biodegradable cellulose block copolymers. *J. Macromol. Sci. Pt. A, Chem.* **A10**, 671-679 (1976).
- 160) Pohjola, L., Eklund, V.: Polyurethane block copolymers from cellulose acetate. *Paperi ja Puu* **3**, 117-120 (1977).
- 161) Feger, C., Cantow, H. J.: Cellulose containing block copolymers 1: synthesis of trimethylcellulose-(*b*-poly(oxytetramethylene))-star block copolymers. *Polym. Bull.* **3**, 407-413 (1980).
- 162) Mezger, T., Cantow, H. J.: Minimization of molecular heterogeneity in radical polymerization application for central block syntheses in threeblock copolymers. *Polym. Bull.* **9**, 515-517 (1983).
- 163) Mezger, T., Cantow, H. J.: Cellulose containing block copolymers 4: cellulose triester macroinitiators. *Angew. Makromol. Chem.* **116**, 13-27 (1983).
- 164) Mezger, T., Cantow, H. J.: Cellulose containing block copolymers 5: threeblock copolymer syntheses via macroinitiator. *Makro-*

- mol. Chem. Rapid Commun.* 4, 313-320 (1983).
- 165) de Oliveira, W., Glasser, W. G.: Novel cellulose derivatives 2: synthesis and characteristics of mono-functional cellulose propionate segments. *Cellulose* 1, 77-86 (1994).
- 166) de Oliveira, W., Glasser, W. G.: Multiphase materials with lignin 13: block-copolymers with cellulose propionate. *Polymer* 35, 1977-1985 (1994).
- 167) Lonikar, S. V., Gilbert, R. D., Fornes, R. E., Stejskal, E.: Block copolymers of polysaccharides and polyamino acids. *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc., Div. Polym. Chem.)* 31, 640-641 (1990).
- 168) Jadage, C. D., Lonikar, S. V., Wadgaonkar, P. P.: "Starch and cellulose based graft and block copolymers", Society for Polymer Science, India, 2004, pp. PD.1/1-PD.1/5.
- 169) Kadokawa, J.-I., Karasu, M., Tagaya, H., Chiba, K.: Synthesis of a block copolymer consisting of oligocellulose and oligochitin. *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.* A33, 1735-1743 (1996).
- 170) Kamatani, A., Kikuchi, Y.: Carbohydrate diblock and triblock copolymers with desirable molecular weights and their manufacture, JP2002146025A.
- 171) Yagi, S., Kasuya, N., Fukuda, K.: Synthesis and characterization of cellulose-*b*-polystyrene. *Polym. J.* 42, 342-348 (2010).
- 172) Sakaguchi, M., Ohura, T., Iwata, T., Takahashi, S., Akai, S., Kan, T., Murai, H., Fujiwara, M., Watanabe, O., Narita, M.: Diblock copolymer of bacterial cellulose and poly (methyl methacrylate) initiated by chain-end-type radicals produced by mechanical scission of glycosidic linkages of bacterial cellulose. *Biomacromolecules* 11, 3059-3066 (2010).
- 173) Kamitakahara, H., Nakatsubo, F.: Synthesis of diblock copolymers with cellulose derivatives 1: model study with azidoalkyl carboxylic acid and cellobiosylamine derivative. *Cellulose* 12, 209-219 (2005).
- 174) Kamitakahara, H., Enomoto, Y., Hasegawa, C., Nakatsubo, F.: Synthesis of diblock copolymers with cellulose derivatives 2: characterization and thermal properties of cellulose triacetate-block-oligoamide-15. *Cellulose* 12, 527-541 (2005).
- 175) Kamitakahara, H., Nakatsubo, F., Klemm, D.: Block co-oligomers of tri-*O*-methylated and unmodified cello-oligosaccharides as model compounds for methylcellulose and its dissolution/gelation behavior. *Cellulose* 13, 375-392 (2006).
- 176) Kamitakahara, H., Nakatsubo, F., Klemm, D.: New class of carbohydrate-based nonionic surfactants: diblock co-oligomers of tri-*O*-methylated and unmodified cello-oligosaccharides. *Cellulose* 14, 513-528 (2007).
- 177) Nakagawa, A., Kamitakahara, H., Takano, T.: Synthesis and thermoreversible gelation of diblock methylcellulose analogues via Huisgen 1, 3-dipolar cycloaddition. *Cellulose* 19, 1315-1326 (2012).
- 178) Kamitakahara, H., Nakatsubo, F., Klemm, D.: Synthesis of methylated cello-oligosaccharides: synthesis strategy for block wise methylated cello-oligosaccharides. *ACS Symp. Ser.* 1017, 199-211 (2009).
- 179) Kamitakahara, H., Murata-Hirai, K., Tanaka, Y.: Synthesis of blockwise alkylated tetrasaccharide-organic quantum dot complexes and their utilization for live cell labeling with low cytotoxicity. *Cellulose* 19, 171-187 (2012).
- 180) Kamitakahara, H., Nakatsubo, F.: ABA- and BAB-triblock cooligomers of tri-*O*-methylated and unmodified cello-oligosaccharides: syntheses and structure-solubility relationship. *Cellulose* 17, 173-186 (2010).
- 181) Nakagawa, A., Fenn, D., Koschella, A., Heinze, T., Kamitakahara, H.: Physical properties of diblock methylcellulose derivatives with regioselective functionalization patterns: first direct evidence that a sequence of 2, 3, 6-tri-*O*-methyl-glucopyranosyl units causes thermoreversible gelation of methylcellulose. *J. Polym. Sci. Pol. Phys.* 49, 1539-1546 (2011).
- 182) Nakagawa, A., Steiniger, F., Richter, W., Koschella, A., Heinze, T., Kamitakahara, H.:

- Thermoresponsive hydrogel of diblock methylcellulose : formation of ribbonlike supramolecular nanostructures by self-assembly. *Langmuir* **28**, 12609-12618 (2012).
- 183) Bodvik, R., Dedinaite, A., Karlson, L., Bergstrom, M., Baverback, P., Pedersen, J. S., Edwards, K., Karlsson, G., Varga, I., Claesson, P. M. : Aggregation and network formation of aqueous methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose solutions. *Colloid Surface A* **354**, 162-171 (2010).

プリオン(異常プリオン蛋白質)の伝播

倉橋 洋史 堂浦 克美

はじめに

伝達性海綿状脳症であるプリオン病は致死性の神経変性疾患である。プリオン病の原因であるプリオンは蛋白性感染粒子で、核酸を持たない特殊な感染体である。ウイルスや細菌などの通常の感染体はDNAやRNAの核酸を持つ。それは宿主体内で自己を増幅させるために絶対必要不可欠な要素だからである。しかし、プリオンは核酸を持たないにもかかわらず感染する。プリオンは宿主の蛋白質を利用して自己を増幅できるからである。

プリオン伝播には個体間の伝播と個体内の伝播という2つの側面がある。個体間伝播は外部のプリオンによって自己のプリオン蛋白質がプリオンへと変化する。個体内伝播は自己のプリオンが核(シード)となってプリオンが増幅する。プリオン病は孤発性、遺伝性、獲得性の3種類に分類される。いずれのプリオン病も体内でプリオンが増幅(個体内伝播)し、さらには神経毒性を発揮する。獲得性プリオン病はさらに個体間伝播が関与している。本稿では、プリオン伝播を個体間、個体内に分類して、現在の知見を紹介する。

個体間プリオン伝播

プリオン(PrP^{Sc})は立体構造が異常なプリオン蛋白質

(PrP)である。蛋白質名にプリオンがつくために混乱を生じやすいが、PrPには正常型の立体構造のものと異常型の立体構造があり、正常型プリオン蛋白質(PrP^C)には感染性はない。異常型プリオン蛋白質(PrP^{Sc})が感染性を持ち、プリオンと呼ばれている(図1)¹⁾。プリオンの伝播効率を決める最も重要な因子は、プリオン蛋白質のアミノ酸配列である。プリオンと同一の配列を持つ場合は感染効率が高い。

1. 同種間プリオン感染

獲得性プリオン病のうち医原性プリオン病とクールー病[死者を悼んで、死者の身体を食べるカニバリズム(食人儀式)が原因]は、ヒト由来のプリオンのためヒトへの感染効率は高い。ヒト以外の動物同士の感染も確認されている。狂牛病と呼ばれている牛海綿状脳症(BSE: bovine spongiform encephalopathy)の大量発生の原因は、ウシの食肉以外の部分を有効利用するために肉骨粉にして飼料としてウシに与えたためである。他には、スクレイピーと呼ばれるヒツジのプリオン病、慢性消耗性疾患(CWD: chronic wasting disease)と呼ばれるシカのプリオン病がある。これらの中でもCWDは野生のシカにも蔓延しており、感染を防止することが難しい。CWDではプリオンが唾液、鼻

くらはし ひろし 東北大学大学院/医学系研究科神経化学分野
 どうらら かつみ 同 教授

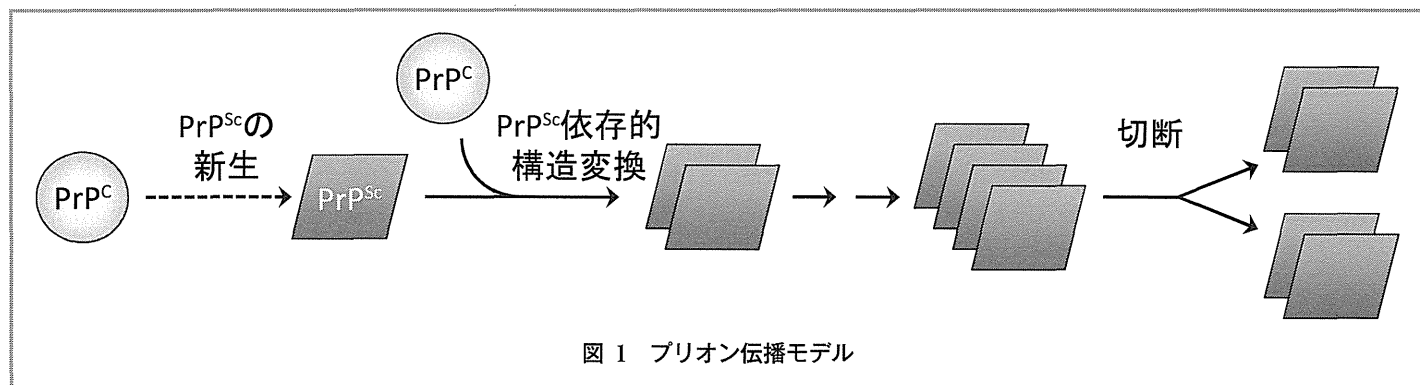


図1 プリオン伝播モデル

汁、糞尿にも排泄され、そのことが水平感染を拡大させている要因である²⁾。

2. 動物種間プリオン感染

動物種間では「種の壁」が存在してプリオン感染が成立しにくい。プリオン蛋白質のアミノ酸配列の違いが大きな要因である。しかし、BSE プリオンからヒトに感染したように、まれに種の壁を超えてプリオンが感染することがある。ヒトとウシの PrP ではアミノ酸が 10 以上も異なるが、それでもウシのプリオンが鋳型となってヒト PrP の構造を変換させる能力がある。興味深いことに、一塩基の違いで種の壁の障壁の高さが大きく異なる。ヒト PrP の 129 番目のアミノ酸にはメチオニンとバリンの遺伝子多型が存在する³⁾。これまでに狂牛病から感染したプリオン病(vCJD: variant Creutzfeldt-Jakob disease)患者の PrP 遺伝子型を調べると、メチオニンタイプの PrP がウシプリオンと親和性が高いことがわかる。vCJD 発病者の中で、今までにバリンタイプの PrP をヘテロかホモに持つ患者は報告されていない⁴⁾。

3. 体内侵入経路

プリオンの最大の特徴は感染経路が脳内接種に限定されないことである。BSE 問題で明らかのようにプリオンは経口感染が成立する。医原性の場合を除いて、プリオンが感染を成立させるためには、プリオン自らの特性や、宿主のシステムを利用して体内に入る必要がある。現在のところ腸管を通して体内に進入している説が有力である⁵⁾。プリオンが腸管のパイエル板上の粘膜上皮に存在する M 細胞を介して体内に進入する経路、腸管内腔まで樹状突起を伸ばした末梢神経がプリオンを直接体内に取り込む経路、消化管内で部分切断されたプリオンが鉄結合蛋白質フェリチンと結合して腸管上皮細胞に取り込まれる経路が報告されている。腸管以外の侵入経路の可能性も考えられる。舌や咽頭にあるリンパ組織から取り込まれるという可能性もある。多量のプリオン曝露という実験的条件ではあるが、経皮や経鼻、角膜からの感染経路も報告されている²⁾。

4. 個体間プリオン伝播としてのプリオンの正体

Prusiner 博士が 1982 年に提唱したプリオン仮説を証明

するために、人工的に合成した PrP に感染性があることを検証する試みが広く行われてきた。例えば、Prusiner 博士らはマウス PrP の C 末端側(89-230)PrP を大腸菌で合成し、精製、アミロイド化させた。さらにマウス PrP(89-231)を高発現する遺伝子組換えマウスにそのアミロイドを脳内接種したところ、プリオン病を発症した⁶⁾。しかし、その感染価は低いことから、感染性を持つプリオン蛋白質の変換には他の細胞性因子の可能性が示唆された。現在のところ、脂質と RNA が効率的なプリオン化に働いているという報告がある。しかし、RNA の効果は PrP の配列に依存しており、ハムスター由来の PrP では大きく促進するが、マウス由来の PrP には影響しないとする報告もある⁷⁾。RNA の配列は特に関係しない。脂質としては、POPG と細胞膜の必須なリン脂質であるフォスファチジルエタノールアミン(PE)が有効である⁷⁾。PE は様々な動物種由来の PrP の増幅に効果が認められる⁷⁾。

プリオン病罹患脳にある感染体としてのプリオンは、どのような構造をとっているのだろうか。プリオン病罹患脳には PrP のアミロイド沈着が認められ、蛋白質分解酵素 proteinase K (PK) による消化に対して部分的に抵抗性を持っている⁸⁾。この PK 抵抗性を持つ高度に重合した PrP 線維状構造体が感染体としての正体と思われていた。しかし、PK 感受性のプリオン蛋白質画分にも感染性があること⁷⁾や、PrP の 14-28 分子に相当する分子量 30 万~60 万程度のオリゴマーが最も感染性が強いという報告もある⁹⁾。ただし、これらの実験は経口投与で試されていないため、PK 感受性の PrP^{Sc}やオリゴマー状の PrP^{Sc}が経口感染することができるかどうかは不明である。

個体内プリオン伝播の分子メカニズム

プリオンが感染した後に神経毒性を発揮するまでには、プリオンが増幅することと脳内まで移動することが重要である。プリオンが増幅する基本原理は他のアミロイドと同様に、異常型蛋白質が正常型蛋白質の立体構造を変化させて異常型に変化させることでプリオンが増幅すると考えられている(図 1)。その証拠に、プリオン蛋白質をコードする *PRNP* 遺伝子のノックアウトマウスでは、プリオン増幅のもととなるプリオン蛋白質が脳内に存在しないため、

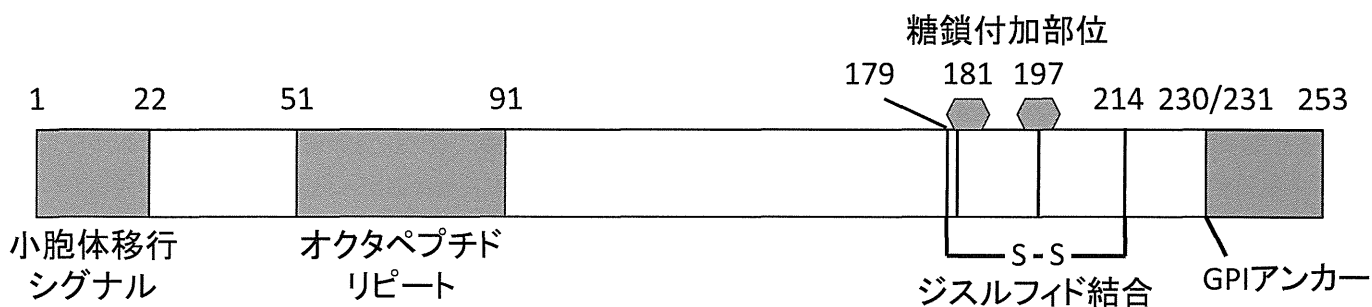


図 2 ヒトプリオン蛋白質 PrP の一次構造

プリオン病罹患脳乳剤を接種してもプリオン病を発症しない¹⁰⁾。この基本原理を念頭において、本項目では個体内プリオン伝播の分子メカニズムを紹介する。

1. プリオン蛋白質の構造と性質

正常型プリオン蛋白質も異常型プリオン蛋白質も同じ *PRNP* 遺伝子から発現する蛋白質である。ヒトの *PRNP* 遺伝子は 253 アミノ酸残基からなる蛋白質をコードしている(図 2)。プリオン蛋白質のアミノ末端は小胞体移行シグナル配列を持ち、小胞体膜透過後にシグナルペプチダーゼによって 22 残基が切断される。正常型プリオン蛋白質は最終的には細胞膜のコレステロールやスフィンゴ脂質を豊富に含むラフトに配置されるが、その移行中に様々な修飾を受ける。231 番目の残基以降は切断されて、230 番目のセリンに glycosyl-phosphatidyl-inositol (GPI) アンカーが付加される。179 番目と 214 番目のシステインがジスルフィド結合を形成する。また、181 番目と 197 番目のアスパラギンに糖鎖が付加されるが、必ずしもすべてが付加されるわけではなく、無糖鎖型、一糖鎖型、二糖鎖型が存在する。

PrP は同一のアミノ酸配列でも正常型と異常型では立体構造が異なる。PrP^Cの立体構造は明らかになっており、N 末端がランダムな構造をして、中央には 1 対の β シート構造、C 末端側には 3 ヲ所の α ヘリックス構造がある¹⁾。正常型 PrP は β シート構造の含有率が低く、異常型 PrP は β シート構造の含有率が高い。

2. 構造変換に重要なプリオン蛋白質のドメイン

PrP^Cから PrP^{Sc}への構造変換効率は PrP^{Sc}の有無で大きく異なり、PrP^{Sc}存在下では効率が高い(図 1)。PrP^{Sc}非存

在下による PrP^Cから PrP^{Sc}への構造変換は、孤発性や遺伝性プリオン病における最初の PrP^{Sc}ができる過程と考えられている。遺伝性プリオン病はプリオン蛋白質の変異に起因しており、PrP^{Sc}の新生効率が野生型より高いことが予想される。今のところ 40 種類以上の変異が確認されている⁷⁾。N 末端から C 末端に至る部位で発見されており、一塩基置換やナンセンス変異、GPI アンカーレス変異など変異の種類は様々である。核が形成されやすい原因としては、PrP の輸送の異常で細胞内における PrP 異常蓄積や、PrP が適格な高次構造をとれず(ミスフォールドをおこして)疎水性ドメインが露出することがあげられる。一方、PrP^{Sc}依存の変換は獲得性プリオン病の感染と、プリオンの増幅でみられ、変換効率は高い(図 1)。PrP の 100 番目付近または 130~150 番目付近のアミノ酸を認識する抗体を用いると、異常化への変換がおきなくなることから、この領域が構造変換に重要といえる¹¹⁾。

3. プリオン株の影響

プリオンには潜伏期間や発症後の進行速度、病理像が異なる株の存在がある¹⁾。ウイルスの株は遺伝子の塩基配列に起因するが、プリオン株は立体構造が決定している。つまり、あるプリオン株が感染した場合は、そのプリオン株と同じ立体構造をとって、その立体構造は引き継がれる。プリオン株の存在は PK 抵抗性の PrP^{Sc}断片で確認することができる。異なるプリオン株では PK 切断点異なるために、分子量の異なる PrP が確認される¹⁾。プリオン株に依存して糖鎖付加の割合が異なることから、プリオン株によって好む糖鎖修飾があると思われる⁷⁾。

4. 構造変換の細胞内部位⁷⁾

PrPはGPIアンカーを持つために、細胞膜上の主に脂質ラフトに局在する。プリオン感染細胞を利用した研究ではPrP^Cは脂質ラフトに局在し、その成分であるコレステロールの減少でPrP^{Sc}の変換が阻害されるため、PrP^CからPrP^{Sc}への構造変換は脂質ラフト上で行われていると推測されている。しかし、脂質ラフトではPrP^{Sc}の凝集や線維化が促進されているのであって、プリオンはエンドソーム経路で形成されている可能性もある。Cryo電子顕微鏡の画像によると、PrP^{Sc}は神経突起のearly/recyclingエンドソームに存在していた。また、25%以上のPrP^{Sc}がearly recycling compartmentのマーカールと局在していた。earlyエンドソームはrecyclingエンドソームとリソソーム経路の分岐点であり、リサイクルされるとPrP^{Sc}は細胞表面上に現れる。もう一方の経路の最終地点はリソソームであり、プリオン感染させたハムスター脳の培養細胞では、主に細胞内、特にリソソームでPrP^{Sc}の局在が観察されている。

5. 細胞間のプリオン伝播¹²⁾

脳内などの組織内でプリオンが拡散するためには、感染細胞から非感染細胞へのプリオン伝播が必須である。この細胞間プリオン伝播は3通りのメカニズムが報告されている。1つめは、感染細胞と非感染細胞の直接的な接触である。感染細胞の細胞膜上にあるPrP^{Sc}が非感染細胞の細胞膜上のPrP^Cを変換させる。2つめは細胞外小胞を介したシステムである。細胞外小胞は細胞間コミュニケーションの仲介役として働いており、直径100 nm~1 μmほどの微小小胞(microvesicle)や、より小さい直径50~100 nmのエキソソームにPrP^{Sc}が積まれて非感染細胞へと運ばれる。3つめは、細胞間を連結して情報伝達を担う細胞膜ナノチューブを介する伝播である。

6. 体内伝播経路

体内に侵入したプリオンはリンパ組織から末梢神経を通って脳内へと広がる説が有力である。経口感染し腸管に侵入したプリオンは脳内へ到達する前に、リンパ組織の濾胞樹状細胞で増殖し、同細胞近傍に分布する神経終末から逆行性に脳内へ移行すると考えられている¹³⁾。リンパ組織や脳以外にも、プリオン株や動物種によって異なるがプリ

オンは全身の様々なところに存在しうる。例えば、末期のCJD患者では筋肉にもプリオンが蓄積している。また、vCJD患者では、vCJD発症前の血液を輸血された人にvCJD感染がおこった例が4例あることから、発症前においてもプリオンが血液中に存在する可能性が高い⁴⁾。

7. 切断によるプリオン(シード数)の増幅

プリオンの増幅効率を上げるファクターは構造変換だけではなく、シード数の増加も重要なファクターになる。シード数の増加はプリオンの切断でおきる(図1)。プリオンが細胞の中に入るとPrP^{Sc}の分子量低下が認められ、細胞内で切断されていることが推測されるが、切断分子は特定されていない¹⁴⁾。

8. 体内におけるプリオン増幅としてのプリオンの正体

体内においてはPrP^Cの鋳型となるPrP^{Sc}は、アミロイド様の構造体でもPK感受性PrP^{Sc}でもPrP^{Sc}のオリゴマーでも十分であるが、構造的異質性を持つヘテロジニアスなプリオンが体内で増幅していると考えられている。また、遺伝性プリオン病のPrP遺伝子P102Lに相当する変異を発現するマウスでは脳内にPrPのアミロイド沈着は認められるが、そのアミロイドは野生型マウスには感染性がないことから、個体内で増幅できるプリオンと個体間感染可能なプリオンは必ずしも一致しない¹⁵⁾。

宿主因子と神経毒性

最後にプリオン伝播に関与するPrP以外の宿主因子と、神経毒性としてのプリオンについて述べる。

1. 宿主因子

プリオン伝播の決定的な宿主因子はPrPであるが、その他にも影響する因子があると考えられている。例えば、vCJD患者は若年層に多くみられる。これは若者ほど牛肉を食べることも一因と考えられるが、高齢になると濾胞樹状細胞の機能が低下することも影響すると考えられる¹⁶⁾。孤発性の発症率が高齢者に多いのはプリオンの核形成を抑える蛋白質品質管理機構が年齢とともに低下する影響かもしれない。また、一個体内に複数のプリオン株が存在する

こともある。ミンクのTSEプリオンを極度に希釈することで2種類のプリオン株の存在が観察されている¹⁷⁾。これは一度プリオンが作られると、生体内では新しくプリオン核が作られやすい環境に陥る可能性を示唆している。

2. 神経毒性としてのプリオン

脳内である程度プリオンが増幅すると、神経毒性を発揮するようになる。プリオンの毒性には脳内でのPrP^Cの供給が必要で、プリオン感染後でも、発病前にPrP^Cの発現を停止することで発症を抑えられる¹⁸⁾。特に、PrP^CはGPIアンカーを持つことが神経毒性の発現に関係しており、GPIアンカーのないPrP^Cを発現しているマウスでは、脳内および末梢に多量のプリオンが蓄積しているにもかかわらず神経症状を示さない¹⁾。一方で、神経毒性の強いプリオン構造体の存在も推定されており、脳内に沈着するプリオンと神経毒性を持つプリオンは必ずしも同一ではない可能性が示唆されている¹⁹⁾。

むすび

プリオンはオリゴマー状のものや様々な重合度のPrP^{Sc}が存在する。N末端が欠損したPrPからなるアミロイドの構造もとりうる。PKに対しての感受性も異なる。このよ

うに、プリオンは様々な構造、性質を有している。このヘテロジニアス性がプリオン伝播や神経毒性に重要なかもしれない²⁰⁾。プリオンは上皮系細胞を通過し、宿主体内を移動しつつ自己を増幅する。また神経毒性まで発揮する。この各過程でプリオンは最適な構造をとり、宿主の防御システムをすり抜けているのだろう。これはあたかも、ウイルスが巧妙に宿主体内に潜り込み、毒性を発揮する様態に似ている。RNAウイルスは細胞外ではキャプシドを身に包み、自身をDNAに変化させ、宿主染色体に潜むことができる。プリオンも自らの形を変えながら巧みに宿主内で増幅しているのだろう。そして、プリオンの表現型としてみえているのはプリオンの性質の一部である可能性がある。実際にプリオン株が2種類あっても表現型は優性のものしか現れない¹⁷⁾。また、ある薬剤を加えることで一部の薬剤感受性プリオンは減衰するが、他の薬剤抵抗性プリオンが増幅する。薬剤がなくなると、元のプリオンがまた増幅するようになり、環境に適合したプリオンが選ばれて増幅する²⁰⁾。すなわち、プリオンはヘテロジニアス性を維持することで様々な環境に耐えられる可能性がある。プリオン伝播のメカニズム解明やプリオン病治療開発には、このヘテロジニアス性を考慮に入れて取り組む必要があるだろう。

文 献

- 1) Aguzzi A, Calella AM. Prions : protein aggregation and infectious diseases. *Physiol Rev.* 2009 ; 89 : 1105-52.
- 2) Denkers ND, Hayes-Klug J, Anderson KR, et al. Aerosol transmission of chronic wasting disease in white-tailed deer. *J Virol.* 2013 ; 87 : 1890-2.
- 3) Doh-ura K, Kitamoto T, Sakaki Y, Tateishi J. CJD discrepancy. *Nature.* 1991 ; 353 : 801-2.
- 4) Ironside JW. Variant Creutzfeldt-Jakob disease : an update. *Folia Neuropathol.* 2012 ; 50 : 50-6.
- 5) Mabbott NA, MacPherson GG. Prions and their lethal journey to the brain. *Nat Rev Microbiol.* 2006 ; 4 : 201-11.
- 6) Legname G, Baskakov IV, Nguyen HO, et al. Synthetic mammalian prions. *Science.* 2004 ; 305 : 673-6.
- 7) Poggiolini I, Saverioni D, Parchi P. Prion protein misfolding, strains, and neurotoxicity : an update from studies on Mammalian prions. *Int J Cell Biol.* 2013 ; 2013 : 910314.
- 8) 倉橋洋史, 逆瀬川裕二, 堂浦克美. マウス神経芽細胞腫細胞由来のProteinase K 耐性プリオン蛋白質(PrPres)の検出. *蛋白質科学会アーカイブ.* 2014 ; 7 : e074.
- 9) Silveira JR, Raymond GJ, Hughson AG, et al. The most infectious prion protein particles. *Nature.* 2005 ; 437 : 257-61.
- 10) Büeler H, Fischer M, Lang Y, et al. Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. *Nature.* 1992 ; 356 : 577-82.
- 11) Peretz D, Williamson RA, Kaneko K, et al. Antibodies inhibit prion propagation and clear cell cultures of prion infectivity. *Nature.* 2001 ; 412 : 739-43.
- 12) Arellano-Anaya ZE, Huor A, Leblanc P, et al. Prion strains are differentially released through the exosomal pathway. *Cell Mol Life Sci.* 2014 ; in press.
- 13) Kitamoto T, Muramoto T, Mohri S, et al. Abnormal isoform of prion protein accumulates in follicular dendritic cells in mice with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Virol.* 1991 ; 65 : 6292-5.
- 14) Choi YP, Priola SA. A specific population of abnormal prion protein aggregates is preferentially taken up by cells and disaggregated in a strain-dependent manner. *J Virol.* 2013 ; 87 : 11552-61.
- 15) Piccardo P, Manson JC, King D, et al. Accumulation of prion protein in the brain that is not associated with transmissible disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007 ; 104 : 4712-7.
- 16) Brown KL, Wathne GJ, Sales J, et al. The effects of host age on follicular dendritic cell status dramatically impair scrapie agent neuroinvasion in aged mice. *J Immunol.* 2009 ; 183 : 5199-207.
- 17) Marsh RF, Bessen RA. Physicochemical and biological characterizations of distinct strains of the transmissible mink encephalopathy agent. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1994 ; 343 : 413-4.
- 18) Mallucci G, Dickinson A, Linehan J, et al. Depleting neuronal PrP in prion infection prevents disease and reverses spongiosis. *Science.* 2003 ; 302 : 871-4.
- 19) Sandberg MK, Al-Doujaily H, Sharps B, et al. Prion propagation and toxicity in vivo occur in two distinct mechanistic phases. *Nature.* 2011 ; 470 : 540-2.
- 20) Shorter J. Emergence and natural selection of drug-resistant prions. *Mol Biosyst.* 2010 ; 6 : 1115-30.

