

## 診療ガイドラインにおける感染特性に基づく孤発性 CJD の分類

研究分担者：小林篤史	北海道大学大学院獣医学研究科比較病理学教室
研究協力者：松浦裕一	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
研究協力者：岩崎 靖	愛知医科大学加齢医科学研究所神経病理部門
研究協力者：村山繁雄	東京都健康長寿医療センター研究所神経病理学研究
研究協力者：高尾昌樹	東京都健康長寿医療センター研究所神経病理学研究
研究協力者：山田正仁	金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科学）
研究協力者：毛利資郎	東北大学大学院医学系研究科病態神経学分野
研究協力者：北本哲之	東北大学大学院医学系研究科病態神経学分野

**研究要旨** 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)を引き起こすプリオンには、臨床症状、病理像、生化学的特性、感染特性などが異なる複数の株があることが知られている。プリオン株ごとに不活化処理や治療薬に対する感受性は異なるため、診療ガイドラインにおいてもプリオン株ごとに孤発性 CJD を分類する必要があると考えられる。そこで本研究計画では、孤発性 CJD 全体の約 3 割を占める MM1+2C を MM1 や MM2C と区別して分類する必要があるのかを検討した。これまで、MM1+2C は臨床的、病理学的、生化学的に MM1 や MM2C とは異なる特徴を示すことが報告されている。しかし、感染実験における感染特性(潜伏期間、プリオン蛋白沈着パターン、異常型プリオン蛋白のタイプ)の点で、MM1+2C は MM1 と全く同じであった。そして、その原因は MM2C の感染力が非常に低いためであることも明らかになった。さらに、硬膜移植に関連した医原性 CJD 症例を検索したところ、感染実験の結果と同様に MM1+2C の感染特性は MM1 と全く同じであることが示唆された。これらの結果は、MM1+2C と MM1 は臨床病理像が異なるものの、その感染特性に差はなく、感染予防という観点からは両者を区別して考える必要がないことを示している。

### A. 研究目的

プリオン株ごとに不活化処理や治療薬に対する感受性は異なるため、診療ガイドラインにおいてもプリオン株ごとに孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)を分類する必要がある。孤発性 CJD MM1+2C は孤発性 CJD 全体の約 3 割を占め、MM1 と MM2C の両方の病理学的・生化学的特徴を示す。<sup>1)</sup> また、MM1+2C の臨床像は MM2C 病変の割合が増えるほど MM1 の臨床像から MM2C の臨床像に近づくことが知られている。<sup>2,3)</sup> しかし、感染特性の点で MM1+2C を MM1 や MM2C と区別して考える必要があるのかはこれまで明らかにされていない。本研究では、プリオン病診療ガイドラインにおける感染特性に基づく孤発性 CJD 分類策定のために、MM1+2C の感染特性を明らかにするを旨とした。

### B. 研究方法

MM1+2C、MM1、MM2C の孤発性 CJD 患者脳ホモジネート(10%)をヒトプリオン蛋白(PrP)ノックインマウス(129M/M, 129M/V, 129V/V, 219K/K マウス)あるいはヒト/マウスキメラ型 PrP ノックインマウス(ChM マウス)に脳内接種し、潜伏期間、脳内の PrP 沈着パターン、異常型 PrP のタイプを調べた感染実験のデータをもとに、MM1+2C は感染特性の点で MM1 や MM2C と区別する必要があるのかを検討した。また、硬膜移植後 CJD 症例を病理組織学的に検索し、MM1+2C と同様の病理学的特徴を示す症例が存在するのかを検討した。

#### (倫理面への配慮)

患者を対象とする遺伝子解析ならびに病理

解析については各施設の倫理委員会の承認、それに基づく説明と同意を得て実施した。動物実験に関しては東北大学動物実験専門委員会の承認を得た上で実施した。

### C. 研究結果

各ノックインマウス系統における潜伏期間と感染率はMM1+2CとMM1との間で差がなかった(表1)。MM1+2C、MM1ともにヒトPrPノックインマウスでは発病までに非常に長い潜伏期間を要したが、ヒト/マウスキメラ型PrPノックインマウス(ChMマウス)では短期間のうちに発病した。接種材料とした脳ホモジネートに含まれる異常型PrPタイプ1とタイプ2の存在比はMM1+2C case #1とcase #2で異なっていたが(図1)、タイプ2異常型PrPを多く含む接種材料(case #2)でも感染性はMM1と同じであった。また、MM2Cはいずれのマウス系統にも感染しなかった。

感染マウス脳の病理組織学的検索においてもMM1+2C接種マウスとMM1接種マウスの間で差はみられなかった(図2)。MM1+2C接種マウスにMM2Cの特徴病変である融合性空胞や空胞周囲性PrP沈着は認められなかった。

感染マウス脳に含まれる異常型PrPの生化学的解析でもMM1+2C接種マウスとMM1接種マウスの間で差はみられなかった(図3)。タイプ2異常型PrP特異抗体を用いたウェスタンブロットでも、MM1+2C接種マウスにタイプ2異常型PrPは検出されなかった。

検索した45例の硬膜移植後CJDのうち、29例はシナプス型PrP沈着を示す非プラーク型、16例は斑状PrP沈着を示すプラーク型の症例であった(図4)。MM1+2Cの特徴であるシナプス型と空胞周囲性PrP沈着の混在はいずれの症例にもみとめられなかった。

### D. 考察

MM1+2Cの感染特性は動物への感染実験でもヒトの医原性感染でもMM1の感染特性と同じであることが明らかになった。そして、その原因はMM2Cの感染力が非常に弱いためであることも示された。MM1+2CとMM1は臨床病理像が異なることから現在は別のグループに

分類されているが、感染特性には差がみられず、感染予防という観点からは両者を区別して考える必要はないことが明らかになった。

### E. 結論

孤発性CJD MM1+2CはMM1と同じ感染特性をもち、区別して分類する必要はない。

### [参考文献]

- 1) Parchi P, Strammiello R, Giese A, Kretzschmar H. Phenotypic variability of sporadic human prion disease and its molecular basis: past, present, and future. *Acta Neuropathol* 121:91-112, 2011.
- 2) Parchi P, Strammiello R, Notari S, Giese A, Langeveld JP, Ladogana A. Incidence and spectrum of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease variants with mixed phenotype and co-occurrence of PrP<sup>Sc</sup> types: an updated classification. *Acta Neuropathol* 118:659-671, 2009.
- 3) Cali I, Castellani R, Alshekhlee A, Cohen Y, Blevins J, Yuan J, Langeveld JP, Parchi P, Safar JG, Zou WQ, Gambetti P. Co-existence of scrapie prion protein types 1 and 2 in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: its effect on the phenotype and prion-type characteristics. *Brain* 132:2643-2658, 2009.

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 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 based on comprehensive mutation data of mouse PrP. *Structure* 22:560-571, 2014.
- 2) 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* 2:32, 2014.
- 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* 4:e004968, 2014.

4) 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* 34:541-546, 2014.

## 2. 学会発表

1) Kobayashi A, Matsuura Y, Mohri S, Kitamoto T. Distinct origins of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: past and future problems. Asian Pacific Prion Symposium 2014, Jeju, July 6-7, 2014.

2) Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Shiraishi A, Ishikawa K, Yamada M, Kitamoto T, Eishi Y, Mizusawa H. Involvement of the dorsal root ganglion in GSS with P105L mutation. Asian Pacific Prion Symposium 2014, Jeju, July 6-7, 2014.

3) Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Kitamoto T, Shiraishi A, Ishikawa K, Honda H, Yamada M, Mizusawa H. Clinical features of Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome with a P105L mutation and a valine-encoding polymorphic codon 129 in the prion protein gene. *Prion* 2014, Trieste, May 27-30, 2014.

4) Hizume M, Sanjo N, Satoh K, Hamaguchi T, Yamada M, Iwasaki Y, Kobayashi A, Kitamoto T, Mizusawa H. Immunohistochemical and neuropathological analyses of the prion protein in genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation. *Prion* 2014, Trieste, May 27-30, 2014.

5) Saverioni D, Capellari S, Kobayashi A, Kitamoto T, Parchi P. Further characterization of PK-resistant PrP<sup>Sc</sup> core fragments in sporadic CJD brains carrying VV or MV at *PRNP* codon 129. *Prion* 2014, Trieste, May 27-30, 2014.

6) 小林篤史, 岩崎 靖, 大塚浩之, 山田正仁, 吉田眞理, 松浦裕一, 毛利資郎, 北本哲之. 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 MV2 の新分類. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 6.5-7, 2014.

7) 荒木邦彦, 中野雄太, 小林篤史, 松平敬史, 杉浦 明, 高尾昌樹, 北本哲之, 村山繁雄, 小尾智一. 皮質や基底核に及ぶ広範囲な海綿状変性と小脳に kuru 斑を認めた孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病 MV2 型の 1 剖検例. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 6.5-7, 2014.

8) 鈴木奈穂美, 浅川美果, 鈴木-香山絵美, 武井洋一, 木下通亨, 小林篤史, 北本哲之, 小柳清光. 非プリオン病脳におけるプリオンの凝集について. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 6.5-7, 2014.

9) 古川迪子, 三條伸夫, 日熊麻耶, 日詰正樹, 小林篤史, 北本哲之, 中村好一, 村山繁雄, 山田正仁, 水澤英洋. プリオン蛋白遺伝子コドン 105 変異 (P105L) による Gerstmann-Sträussler-Scheinker 症候群 (GSS) の臨床像 -GSS (P102L) との比較解析-. 第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会, 金沢, 9.4-6, 2014.

10) 三條伸夫, テムチナ, 日詰正樹, 新竜一郎, 佐藤克也, 小林篤史, 北本哲之, 山田正仁, 水澤英洋. V180I 変異遺伝性プリオン病の臨床・病理解析. 第 33 回日本認知症学会学術集会, 横浜, 11.29-12.1, 2014.

## 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

表 1 マウスにおける潜伏期間と感染率

接種材料 (case No.)	マウス系統名 (導入したヒトPrP遺伝子のコドン129と219における正常多型)				
	129M/M (MM, E/E)	129M/V (MV, E/E)	129V/V (VV, E/E)	219K/K (MM, K/K)	ChM
MM1+2C (#1)	615±8 (6/6) <sup>a</sup>	N.D. <sup>b</sup>	717±44 (6/6)	647±49 (5/5)	162±13 (6/6)
MM1+2C (#2)	580±8 (5/5)	595±6 (4/4)	588±11 (4/4)	594±10 (5/5)	160±9 (4/4)
MM1 (#1)	467±24 (8/8)	490±26 (5/5)	774±32 (6/6)	573±52 (5/5)	142±3 (5/5)
MM1 (#2)	531±47 (5/5)	508±55 (6/6)	588±3 (5/5)	527±31 (6/6)	154±5 (6/6)
MM2C	- (0/7)	- (0/7)	- (0/7)	- (0/8)	- (0/6)

<sup>a</sup> 平均潜伏期間 (days ± SEM) と感染率 (感染したマウス匹数 / 接種匹数)

<sup>b</sup> N.D., not done

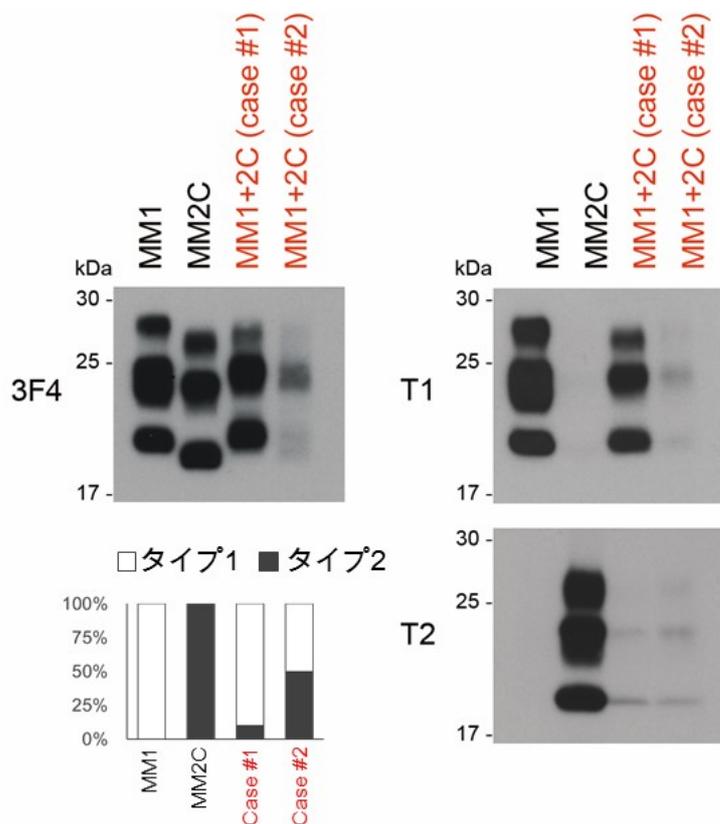


図 1 接種材料中の異常型 PrP

MM1+2C case#1 よりも case #2 の方がタイプ 2 異常型 PrP 含有比率が高かった。3F4, 異常型 PrP タイプ 1 とタイプ 2 両方を検出する一般的な PrP 抗体; T1, タイプ 1 異常型 PrP 特異抗体; T2, タイプ 2 異常型 PrP 特異抗体。

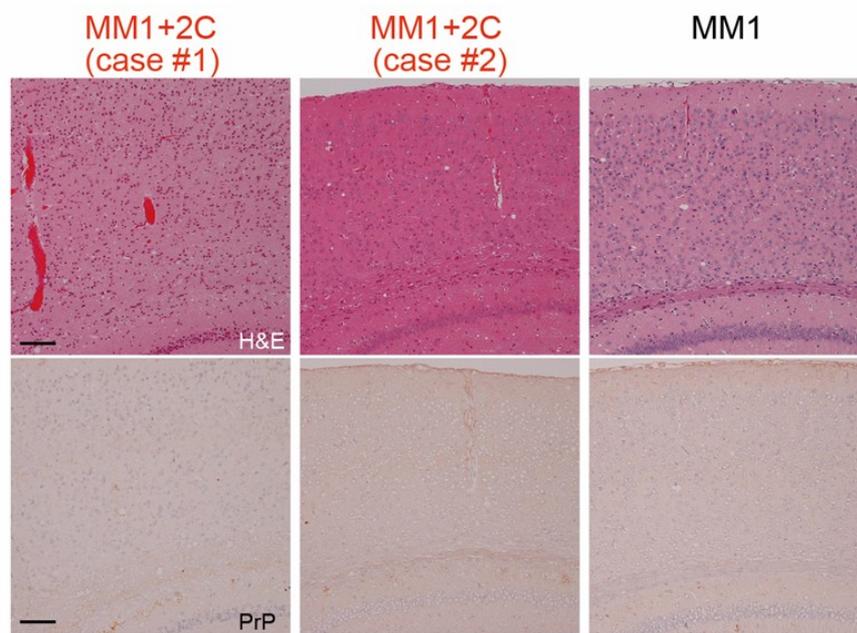


図2 感染マウス(129M/M マウス)における脳病変および PrP 沈着パターン  
 MM1+2C 接種マウスと MM1 接種マウスはいずれもシナプス型 PrP 沈着のみを示し、MM2C の特徴  
 病変である融合性空胞と空胞周囲性沈着は伝達されなかった。

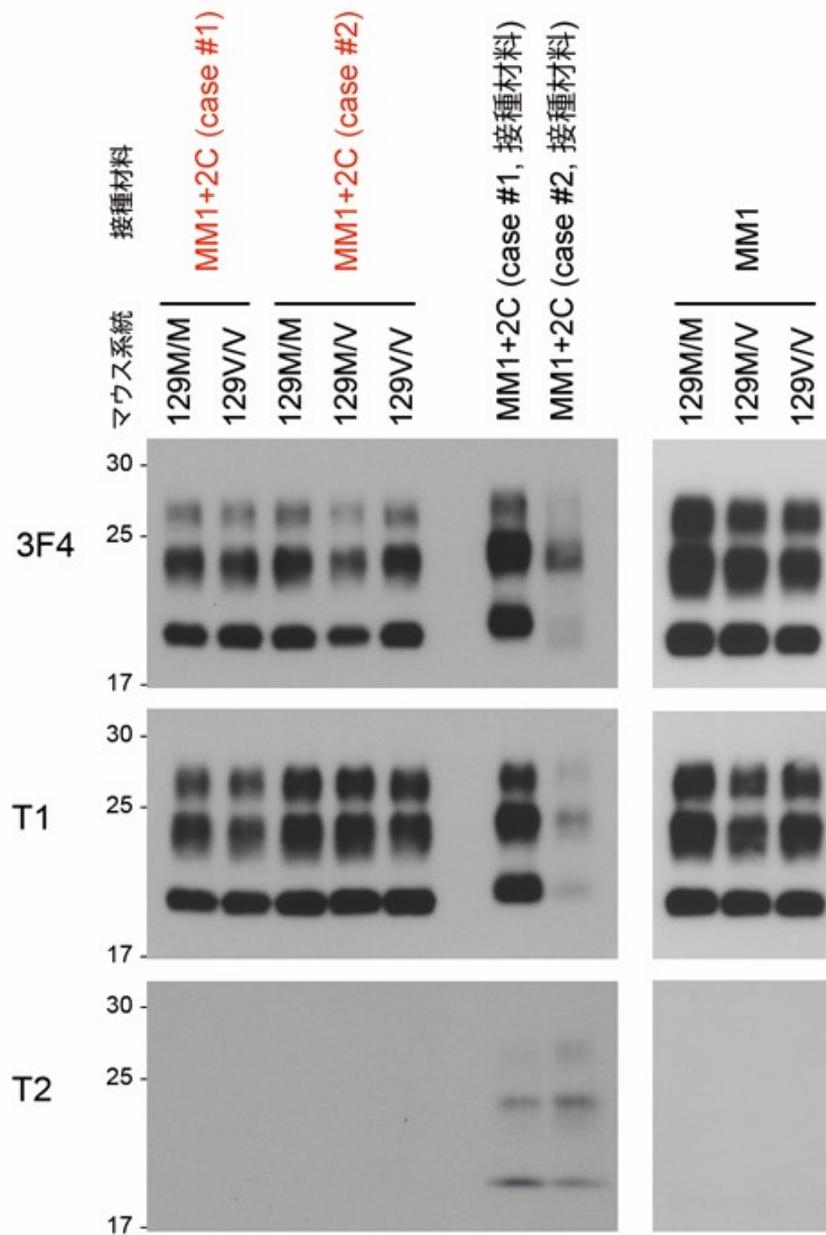


図3 感染マウス(129M/M, 129M/V, 129V/V マウス)における異常型 PrP タイプ MM1+2C 接種マウスと MM1 接種マウスではタイプ 1 異常型 PrP のみが検出された。MM1+2C を接種したいずれのマウス系統においてもタイプ 2 異常型 PrP は伝達されなかった。

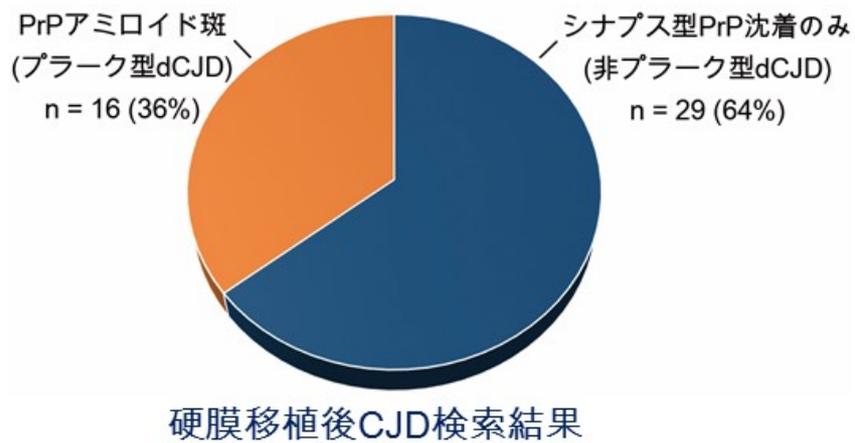
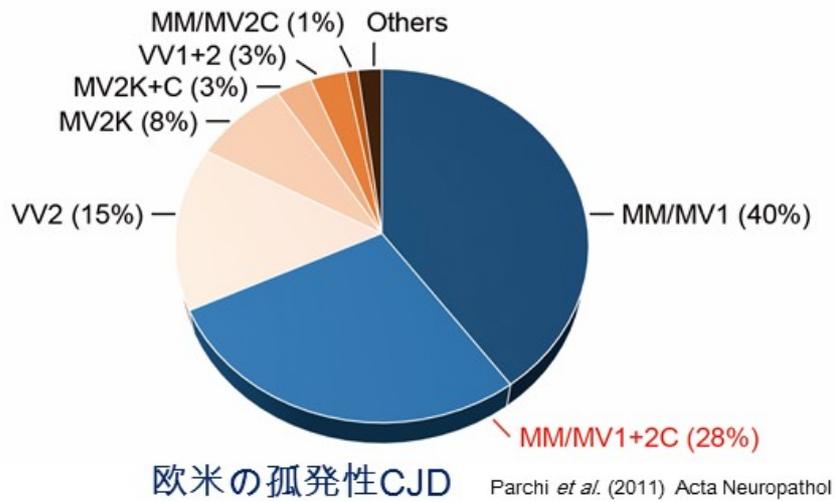


図4 医源性CJDにおけるMM1+2Cの検索

硬膜移植後CJDの感染源となった硬膜が採取された欧米では、MM1+2Cが孤発性CJD全体の約3割を占める。その一方、今回検索した硬膜移植後CJD症例にMM2C特徴病変の混在は全く認められなかった。この結果は、MM1+2Cの感染特性はMM1の感染特性と同じであることを示唆している。