

## サーベイランス遺伝子解析

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 27 年 10 月 1 日から平成 28 年 9 月 30 日までの遺伝子解析の結果を報告する。  
プリオン蛋白遺伝子を解析した症例数は、306 例であった。変異なしの症例は、243 例（129M/M, 219E/E 227 例、129M/V, 219E/E 7 例、129M/M, 219E/K 8 例、129V/V, 219E/E 1 例）であった。変異ありの症例は、63 例（P102L 2 例、P105L 2 例、V180I 39 例、E200K 7 例、M232R 13 例）であった。
- 平成 28 年 10 月 1 日から平成 29 年 9 月 30 日までの遺伝子解析の結果を報告する。  
プリオン蛋白遺伝子を解析した症例数は、290 例であった。変異なしの症例は、214 例（129M/M, 219E/E 189 例、129M/V, 219E/E 13 例、129M/M, 219E/K 10 例、129V/V, 219E/E 1 例、129M/M, 219K/K 1 例）であった。変異ありの症例は、76 例（P102L 10 例、D178N 2 例、V180I 45 例、E200K 7 例、M232R 9 例、T188K 1 例、96bp 挿入 1 例、180/232 1 例）であった。

### A. 研究目的

わ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、Met/Met, Met/Val, Val/Val という 3 種類が、コドン 219 に関しても、Glu/Glu, Glu/Lys, Lys/Lys という 3 種類が存在する。これらの多型性に加えて、プリオン蛋白変異も存在し、サーベイランスで取り上げられる症例に関して多型性と遺伝子変異を解析するのが本研究の主な目的である。

さらに、剖検された症例に関しては、ウエスタンブロットによる異常プリオン蛋白のタイプを決定することも本研究の目的に入っている。

### B. 研究方法

【方法】 各施設から送られてきた認知症などを示す症例 596 例のプリオン蛋白領域の遺伝子解析を行った。プリオン蛋白遺伝子領域を PCR にて増幅し、ダイレクトシーケンスにより正常多型や変異を確認した。変異と正常多型がヘテロである症例などでは、fidelity の高い polymerase を用いて増幅した PCR 産物をクローニングし、どのアレルに変異が存在するのかを同定した。

Western blot に関しては、部分精製した分画を proteinase K によって処理を行い、3F4 抗体、タイプ 1 特異的抗体、タイプ 2 特異的抗体、TNT 抗体（フラグメント解析）の 4 種類の抗体によって最終的なタイプを決定している。

## (倫理面への配慮)

遺伝子検査に関しては、所属施設の倫理委員会にてすでに許可を得ている。

## C. 研究結果

2年間の遺伝子検査の結果は以下であった。

平成27年10月1日から平成28年9月30日までの遺伝子解析は、306例であった。

プリオン蛋白遺伝子変異なし 243例

129M/M, 219E/E 227例

129M/V, 219E/E 7例

129M/M, 219E/K 8例

129M/V, 219E/K 1例

プリオン蛋白遺伝子変異あり 63例

P102L 2例

P105L 2例

V180I 39例

E200K 7例

M232R 13例

平成28年10月1日から平成29年9月30日までの遺伝子解析数は、290例であった。

プリオン蛋白遺伝子変異なし 214例

129M/M, 219E/E 189例

129M/V, 219E/E 13例

129M/M, 219E/K 10例

129V/V, 219E/E 1例

129M/M, 219K/K 1例

プリオン蛋白遺伝子変異あり 76例

P102L 10例(うち129M/V 1例)

D178N 2例

V180I 45例(うち129M/V 12例)

E200K 7例

M232R 9例

T188K 1例

96bp 1例

180/232 1例

## D. 考察

基本的に遺伝子検索は例年通りであった。

## E. 結論

2年間で、596例の遺伝子解析を行った。また、サーベイランスが始まって以来初めてのVPSP rを経験した(詳しくは平成29年度報告書に記載)

[参考文献]

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Hamaguchi T, Taniguchi Y, Sakai K, Kitamoto T, Takao M, Murayama S, Iwasaki Y, Yoshida M, Shimizu H, Kakita A, Takahashi H, Suzuki H, Naiki H, Sanjo N, Mizusawa H, Yamada M. Significant association of cadaveric dura mater grafting with subpial A $\beta$  deposition and meningeal amyloid angiopathy. *Acta Neuropathol*, 132(2): 313-5, 2016
- 2) Cescatti M, Saverioni D, Capellari S, Tagliavini F, Kitamoto T, Ironside J, Giese A, Parchi P. Analysis of Conformational Stability of Abnormal Prion Protein Aggregates across the Spectrum of Creutzfeldt-Jakob Disease Prions. *J Virol*. 90(14): 6244-54, 2016
- 3) Takeuchi A, Kobayashi A, Parchi P, Yamada M, Morita M, Uno S, Kitamoto T. Distinctive properties of plaque-type dura mater

- graft-associated Creutzfeldt- Jakob disease in cell-protein misfolding cyclic amplification. *Lab Invest.* 96(5): 581-7, 2016
- 4) Oshita M, Yokoyama T, Takei Y, Takeuchi A, Ironside JW, Kitamoto T, Morita M. Efficient propagation of variant Creutzfeldt-Jakob disease prion protein using the cell-protein misfolding cyclic amplification technique with samples containing plasma and heparin. *Transfusion.* 56(1): 223-30, 2016
  - 5) Minikel EV, Vallabh SM, Lek M, Estrada K, Samocha KE, Sathirapongsasuti JF, McLean CY, Tung JY, Yu LP, Gambetti P, Blevins J, Zhang S, Cohen Y, Chen W, Yamada M, Hamaguchi T, Sanjo N, Mizusawa H, Nakamura Y, Kitamoto T, Collins SJ, Boyd A, Will RG, Knight R, Ponto C, Zerr I, Kraus TF, Eigenbrod S, Giese A, Calero M, de Pedro-Cuesta J, Haïk S, Laplanche JL, Bouaziz- Amar E, Brandel JP, Capellari S, Parchi P, Poggi A, Ladogana A, O'Donnell-Luria AH, Karczewski KJ, Marshall JL, Boehnke M, Laakso M, Mohlke KL, Kähler A, Chambert K, McCarroll S, Sullivan PF, Hultman CM, Purcell SM, Sklar P, van der Lee SJ, Rozemuller A, Jansen C, Hofman A, Kraaij R, van Rooij JG, Ikram MA, Uitterlinden AG, van Duijn CM; Exome Aggregation Consortium (ExAC), Daly MJ, MacArthur DG. Quantifying prion disease penetrance using large population control cohorts. *Sci Transl Med.* 8(322):322ra9, 2016
  - 6) Kobayashi A, Matsuura Y, Iwaki T, Iwasaki Y, Yoshida M, Takahashi H, Murayama S, Takao M, Kato S, Yamada M, Mohri S, Kitamoto T. Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease MM1+2C and MM1 are Identical in Transmission Properties. *Brain Pathol.* 26(1): 95-101, 2016
  - 7) Hayashi Y, Iwasaki Y, Takekoshi A, Yoshikura N, Asano T, Mimuro M, Kimura A, Satoh K, Kitamoto T, Yoshida M, Inuzuka T. An autopsy-verified case of FTLD-TDP type A with upper motor neuron-predominant motor neuron disease mimicking MM2-thalamic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Prion.* 10(6): 492-501, 2016
  - 8) Hayashi Y, Yoshikura N, Takekoshi A, Yamada M, Asano T, Kimura A, Satoh K, Kitamoto T, Inuzuka T. Preserved regional cerebral blood flow in the occipital cortices, brainstem, and cerebellum of patients with V180I-129M genetic Creutzfeldt-Jakob disease in serial SPECT studies. *J Neurol Sci.* 370: 145-151, 2016
  - 9) Iwasaki Y, Mori K, Ito M, Mimuro M, Kitamoto T, Yoshida M. An autopsied case of MM1 + MM2-cortical with

- thalamic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease presenting with hyperintensities on diffusion-weighted MRI before clinical onset. *Neuropathology*. 37(1): 78-85, 2017
- 10) Nakatani E, Kanatani Y, Kaneda H, Nagai Y, Teramukai S, Nishimura T, Zhou B, Kojima S, Kono H, Fukushima M, Kitamoto T, Mizusawa H. Specific clinical signs and symptoms are predictive of clinical course in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Eur J Neurol*. 23(9): 1455-62, 2016
- 11) Iwasaki Y, Kato H, Ando T, Mimuro M, Kitamoto T, Yoshida M. MM1-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with 1-month total disease duration and early pathologic indicators. *Neuropathology*. 37(5): 420-425, 2017
- 12) Iwasaki Y, Saito Y, Aiba I, Kobayashi A, Mimuro M, Kitamoto T, Yoshida M. An autopsied case of MV2K + C-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease presenting with widespread cerebral cortical involvement and Kuru plaques. *Neuropathology*. 37(3): 241-248, 2017
- 13) Iwasaki Y, Mori K, Ito M, Akagi A, Mimuro M, Kitamoto T, Yoshida M. An autopsy case of Creutzfeldt-Jakob disease with a prion protein gene codon 180 mutation presenting with pathological laughing and an exaggerated startle reaction. *Neuropathology*. 37(6): 575-581, 2017
- 14) Hayashi Y, Iwasaki Y, Yoshikura N, Asano T, Mimuro M, Kimura A, Satoh K, Kitamoto T, Yoshida M, Inuzuka T. An autopsy-verified case of steroid-responsive encephalopathy with convulsion and a false-positive result from the real-time quaking-induced conversion assay. *Prion*. 11(4): 284-292, 2017
- 15) Fernández-Borges N, Espinosa JC, Marín-Moreno A, Aguilar-Calvo P, Asante EA, Kitamoto T, Mohri S, Andréoletti O, Torres JM. Protective Effect of Val<sub>129</sub>-PrP against Bovine Spongiform Encephalopathy but not Variant Creutzfeldt-Jakob Disease. *Emerg Infect Dis*. 23(9): 1522-1530, 2017
- 16) Harada R, Ishiki A, Kai H, Sato N, Furukawa K, Furumoto S, Tago T, Tomita N, Watanuki S, Hiraoka K, Ishikawa Y, Funaki Y, Nakamura T, Yoshikawa T, Iwata R, Tashiro M, Sasano H, Kitamoto T, Yanai K, Arai H, Kudo Y, Okamura N. Correlations of <sup>18</sup>F-THK5351 PET with post-mortem burden of tau and astrogliosis in Alzheimer's disease. *J Nucl Med*. pii: jnumed.117.197426, 2017
- 17) Takeuchi A, Kobayashi A, Morita M, Kitamoto T. Application of protein misfolding cyclic amplification for

the rapid diagnosis of acquired Creutzfeldt-Jakob disease. Medical Research Archives, Vol. 5, 1-11, 2017

- 18) Kobayashi A, Kitamoto T, Mizusawa H. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. Handb Clin Neurol. 2017 (in press).
- 19) Hayashi Y, Yamada M, Kimura A, Asano T, Satoh K, Kitamoto T, Yoneda M, Inuzuka T. Clinical findings of a probable case of MM2-cortical-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with antibodies to anti-N-terminus of  $\alpha$ -enolase. Prion. 11(6): 454-464, 2017
- 20) Akagi A, Iwasaki Y, Mimuro M, Kitamoto T, Yamada M, Yoshida M. Pathological progression of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with a PrP V180I mutation. Prion. 31: 1-9, 2018
- 21) Cali I, Cohen ML, Haïk S, Parchi P, Giaccone G, Collins SJ, Kofskey D, Wang H, McLean CA, Brandel JP, Privat N, Sazdovitch V, Duyckaerts C, Kitamoto T, Belay ED, Maddox RA, Tagliavini F, Pocchiari M, Leschek E, Appleby BS, Safar JG, Schonberger LB, Gambetti P. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease with Amyloid- $\beta$  pathology: an international study. Acta Neuropathol Commun. 6(1): 5, 2018
- 22) Munesue Y, Shimazaki T, Qi Z, Isoda N, Sawa H, Aoshima K, Kimura T, Mohri S, Kitamoto T, Kobayashi A. Development of a quick bioassay for

the evaluation of transmission properties of acquired prion diseases. Neurosci Lett. 668: 43-47, 2018

- 23) Ito Y, Sanjo N, Hizume M, Kobayashi A, Ohgami T, Satoh K, Hamaguchi T, Yamada M, Kitamoto T, Mizusawa H, Yokota T. Biochemical features of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with valine-to-isoleucine substitution at codon 180 on the prion protein gene. Biochem Biophys Res Commun. 496(4): 1055-1061, 2018

## 2. 学会発表

なし

## G. 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

