

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）
 プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

医原性プリオン病である、硬膜移植後 CJD と 成長ホルモン製剤投与後 CJD について

研究分担者：北本哲之 東北大学大学院医学系研究科
 研究協力者：毛利資郎 東北大学大学院医学系研究科

研究要旨 我々は、硬膜移植後 CJD の 30%を占める V2 プリオン感染に関して従来からの消毒法が有効か否かを検討中である。今年度は、硬膜移植後 CJD と比較して V2 プリオンの感染が多いと報告されている英国例ではなく、フランス症例と同様に V2 プリオンの比率が多いかを実際のフランス例を用いて解析を行った。現時点での感染実験結果からは、接種したプリオンはすべて V2 プリオンと判断して良い。フランスの成長ホルモン製剤投与後 CJD は、MV2 症例が 2 例、MMiK 症例が 3 例であった。また、腹腔内投与による MM1 プリオンと VV2 プリオンの感染成立の効率を検討したところ、圧倒的に VV2 プリオンの感染の成立する確率が高いことが明らかとなった。

A. 研究目的

わが国で数多く報告されている医原性プリオン病である硬膜移植例と比較するために、英国とフランスでの成長ホルモン製剤 (hGH) による医原性プリオン病を検索してきた。成長ホルモン製剤は、製薬会社が作製したものではなく、英国、フランスの研究機関がそれぞれ独自に作成したものであり、剖検例の下垂体から精製したものである。ちなみに、英国の成長ホルモン製剤では、1 ロット作製するために 40 万例以上の下垂体を使用されており、この中にプリオン病の剖検例が含まれていたと考えられている。硬膜も下垂体もヨーロッパの剖検症例から得たものであるが、わが国の硬膜移植後 CJD がヨーロッパの s CJD の M1 (70%) と V2 プリオン (30%) の頻度どおり、M1 プリオンが 70%、V2 プリオンが 30%であるのに比較して、英国の hGH-CJD では M1 プリオンが 5%、V2 プリオンが 95%と全く s CJD の頻度と異なっている (参考文献)。本当にフランスの hGH 由来の CJD でも同様の頻度なのかを、サルペトリエール病院からサンプルを取り寄せ検討した。

B. 研究方法

{材料}

サルペトリエール病院から、hGH-CJD と診断

された 5 症例の凍結脳を手に入れた。J-43~47 と各症例に番号化した。遺伝子検査では、コドン 129Met/Met が 3 例、コドン 129Met/Val が 2 例であった。

{方法}

感染実験。10%脳乳剤を作製し、Ki-129Met/Met と Ki-129Val/Val マウスを用いて頭蓋内投与により感染実験を行っている。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析に関しては、所属施設の倫理審査の許可を得て行っている。また動物実験に関しても、感染実験の許可を受けて行っている。

C. 研究結果

J-43 MM genotype Ki-129V/V 311.6±25.4 days(6/6)
 Ki-129M/M 674.6±50.9 days(6/6)
 J-44 MV genotype Ki-129V/V 433.4±81.7 days(5/5)
 Ki-129M/M 758.5±26.6 days(4/4)
 J-45 MV genotype Ki-129V/V 374.6±22.7 days(5/5)
 Ki-129M/M 613, 715 days(2/2)on going
 J-46 MM genotype Ki-129V/V 352.7±43 days(4/4)
 Ki-129M/M 360, 528 days (2/2) on going
 J-47 MM genotype Ki-129V/V 325.8±8.6 days(5/5)
 Ki-129M/M 689.6±15.5days(5/5)
 結果は、すべての Ki-129V/V マウスへの感染

が成立しており、300 日～400 日の潜伏期間であった。Ki-129M/M マウスも Ki-129V/V より常に遅れた潜伏期間を示している。ウエスタンブロットの図 1 を示す。

末梢ルートからの感染実験

MM1 と VV2 を頭蓋内に投与すると感染が成立する頻度は、Ki-129M/M でも Ki-129V/V でも 100%であった。しかしながら、腹腔内投与による MM1 と VV2 の感染成立の頻度は表 1 の通りであった。

つまり、末梢ルートでは圧倒的に VV2 プリオンの感染が成立しやすいことを示すデータであった。

D. 考察

現時点での感染実験の結果は、フランスの成長ホルモン製剤投与後 CJD はすべて V2 プリオンとして矛盾しないという結果である。途中経過ながら、今年度の感染実験の結果と、2017 年報告された英国での成長ホルモン製剤による CJD の報告から M1 プリオンに相当する症例はごく少なく、ほとんどの症例が V2 プリオン感染であることが明らかとなった。成長ホルモン製剤も硬膜もヨーロッパの CJD がその感染源である。我が国の硬膜移植症例は 70%が M1 プリオン、30%が V2 プリオンとヨーロッパの孤発性 CJD の頻度とほぼ同じ頻度である。しかし、成長ホルモン製剤による医原性 CJD では、この頻度を反映せず圧倒的に V2 プリオンが多いことが明らかになりつつある。成長ホルモン製剤と硬膜の違いは、その使用(投与)場所である。成長ホルモン製剤は、筋肉内注射か皮下注射という末梢ルートからの投与であるのに比較して、硬膜は頭蓋内で直接使用されほぼ脳内投与と考えてよい。今年度は、さらに V2 プリオンと M1 プリオンの感染性を末梢ルートによって感染成立の比率を比較した。圧倒的に V2 プリオンの感染が成立しやすいことが明らかとなった。

E. 結論

硬膜移植後 CJD と比較して、成長ホルモン製剤投与後 CJD では圧倒的に V2 プリオン感染の比率が多い。また、末梢ルートでの感染性を直

接チェックすると V2 プリオンの感染成立が M1 プリオンと比較して高いことが明らかとなった。

[参考文献]

1) Ritchie DL, Barria MA, Peden AH, Yull HM, Kirkpatrick J, Adlard P, Ironside JW, Head MW. UK Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease: investigating human prion transmission across genotypic barriers using human tissue-based and molecular approaches. *Acta Neuropathol* 133:579-595, 2017.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ishizawa K, Mitsufuji T, Shioda K, Kobayashi A, Komori T, Nakazato Y, Kitamoto T, Araki N, Yamamoto T, Sasaki A. An autopsy report of three kindred in a Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease P105L family with a special reference to prion protein, tau, and β -amyloid. *Brain Behav* 8:e01117, 2018.

2) Iwasaki Y, Kato H, Ando T, Akagi A, Mimuro M, Miyahara H, Kitamoto T, Yoshida M. Autopsy case of V180I genetic Creutzfeldt-Jakob disease presenting with early disease pathology. *Neuropathology* 38:638-645, 2018.

3) Takao M, Kimura H, Kitamoto T, Mihara B. PrP^{res} deposition in the retina is a common finding of sporadic, familial and iatrogenic Creutzfeldt-Jakob diseases(CJD). *Acta Neuropathol Commun* 6:78, 2018.

4) Iwasaki Y, Imamura K, Iwai K, Kobayashi Y, Akagi A, Mimuro M, Miyahara H, Kitamoto T, Yoshida M. Autopsied case of non-plaque-type dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease presenting with extensive amyloid- β deposition. *Neuropathology* 38:549-556, 2018.

5) Miyake K, Hara T, Oshima E, Kawada K, Ishizu H, Yamauchi Y, Satoh K, Kitamoto T, Takenoshita S, Terada S, Yamada N. Creutzfeldt-Jakob disease with Alzheimer pathology, presenting with status epilepticus following repeated partial

seizures: a case report and literature review. *BMC Neurol* 18:54, 2018.

6) Kobayashi A, Kitamoto T, Mizusawa H. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. *Handb Clin Neurol* 153:207-218, 2018.

7) Ishiki A, Harada R, Kai H, Sato N, Totsune T, Tomita N, Watanuki S, Hiraoka K, Ishikawa Y, Funaki Y, Iwata R, Furumoto S, Tashiro M, Sasano H, Kitamoto T, Kudo Y, Yanai K, Furukawa K, Okamura N, Arai H. Neuroimaging-pathological correlations of [¹⁸F]THK5351 PET in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol Commun* 6:53, 2018.

8) Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Hamaguchi T, Yamada M, Kitamoto T, Mizusawa H, Yokota T. Specific amyloid-β42 deposition in the brain of a Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease patient with a P105L mutation on the prion protein gene. *Prion* 12:315-319, 2018.

9) Kobayashi A, Matsuura Y, Takeuchi A, Yamada M, Miyoshi I, Mohri S, Kitamoto T. A domain responsible for spontaneous conversion of bank vole prion protein. *Brain Pathol* 29:155-163, 2019.

10) Iwasaki Y, Hashimoto R, Saito Y, Aiba I, Inukai A, Akagi A, Mimuro M, Miyahara H, Kitamoto T, Yoshida M. An autopsied case of MM1-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with pathology of Wernicke encephalopathy. *Prion* 13:13-20, 2019.

11) Teruya K, Nishizawa K, Oguma A, Sakasegawa Y, Kitamoto T, Doh-Ura K. Intermolecular crosslinking of abnormal

prion protein is efficiently induced by a primuline-sensitized photoreaction. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1863:384-394, 2019.

12) Kobayashi A, Qi Z, Shimazaki T, Munesue Y, Miyamoto T, Isoda N, Sawa H, Aoshima K, Kimura T, Mohri S, Kitamoto T, Yamashita T, Miyoshi I. Ganglioside synthase knock-out reduces prion disease incubation time in mouse models. *Am J Pathol* 189:677-686, 2019.

13) Wang Z, Yuan J, Shen P, Abskharon R, Lang Y, Dang J, Adornato A, Xu L, Chen J, Feng J, Moudjou M, Kitamoto T, Langeveld J, Appleby B, Ma J, Kong Q, Petersen RB, Zou WQ, Cui L. In vitro seeding activity of glycoform-deficient prions from variably protease-sensitive prionopathy and familial CJD associated with PrP^{V180I} mutation. *Mol Neurobiol* 35: 55-58, 2019.

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

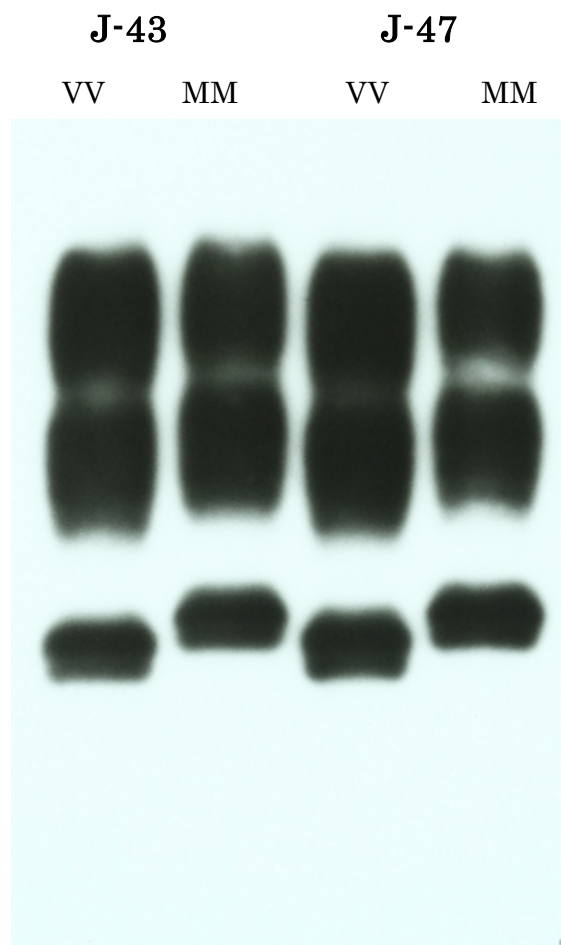
2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

【図 1】



上の図は、MM 遺伝子型をもつ成長ホルモン症例の感染実験結果である。J-43、J-47 とも Ki-129V/V マウスではタイプ 2 を Ki-129M/M マウスではタイプ i の異常プリオン蛋白の分子量を呈する。

【表 1】

	Ki-129M/M	Ki-129V/V
MM1	0%	37.50%
VV2	57%	94%