

## 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病態神経学

### 研究要旨

平成 29 年 10 月 1 日から平成 30 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、329 例であった。変異なしの症例は、255 例（129M/M, 219E/E 226 例、129M/V, 219E/E 17 例、129M/M, 219E/K 8 例、129V/V, 219E/E 1 例、129M/M, 219K/K 3 例）であった。変異ありの症例は、74 例（P102L 7 例、D178N 1 例、V180I 43 例、E200K 8 例、M232R 12 例、Y162stop 1 例、E196K 1 例、120bp 挿入 1 例）であった。さらに、この研究期間中、MM2T 症例の病理像を解析したので報告する。

### 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 329 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

（結果 1）平成 29 年 10 月 1 日から平成 30 年 9 月 30 日までの遺伝子解析数は、329 例であった。

プリオン蛋白遺伝子変異なし 255 例  
129M/M, 219E/E 226 例  
129M/V, 219E/E 17 例

129M/M, 219E/K 8例  
 129V/V, 219E/E 1例  
 129M/M, 219K/K 3例

プリオン蛋白遺伝子変異あり 74例

P102L 7例  
 D178N 1例  
 V180I 43例 (うち 129M/V 8例)  
 E200K 8例  
 M232R 12例  
 Y162stop 1例  
 E196K 1例  
 120bp insertion 1例

依然として、プリオン蛋白変異では、圧倒的に V180I 変異が多いことがわかる。また、V180I 症例では、圧倒的に 129M/V の多型性をもつ症例も正常人に比較して比率が多い。今回は新しい Y162stop 変異の症例を認めた。

(結果 2) MM2T 症例の病理像。

我が国では、129Met/Met の人口が多いためなのか、MM2T 症例も欧米より頻度が高い。MM2T は、fatal sporadic insomnia (FSI) と呼ばれ、家族性致死性不眠症の孤発性症例と考えられている。FFI では、同一家族内に、不眠症型の phenotype をとる症例と、CJD 型の phenotype をとる症例が見られることがバスク地方の FFI で報告されてきたが、この両方の phenotype を示す FFI はわが国の症例を含めて、世界的に見られるようである。FFI で見られるこのような phenotype の違いが FSI と呼ばれる MM2T 症例でも認められるのかを検討するために、MM2T と診断されている症例の病理像を検討した。今回検討したのは、比較的純粋な(他の MM1 や MM2C 病変を伴わない)MM2T の 10 例である。

今回検討した症例は、全て Western blot ではタイプ 2 の異常型プリオン蛋白のみ検出された症例である。

2 例が、大脳皮質に広範に spongiform changes を認め、PrP 免疫染色でもシナプス型の沈着を認めた。

1 例で、同様の spongiform changes を認めたが、その範囲は限られたもので lobe を超えることはなく部分的範囲に留まった。ただ、海綿状脳症は皮質の全層に及んだ。

5 例で、ごく一部に spongiform changes を認めたが、その範囲は 1mm<sup>2</sup> を超えるものではなかった。

2 例では、ほぼ spongiform changes を認めず、視床内側部と下オリブ核の神経細胞脱落のみを認めた。

#### D. 考察

基本的に遺伝子検索は例年通りであった。また、今年度は、MM2T の神経病理を検討したが、MM2T 症例でも FFI のように spongiform changes が広範に認められ、異常プリオン蛋白の沈着がシナプス型を呈する症例が確実に存在することが明らかとなった。

#### E. 結論

329 例の遺伝子解析を行った。また、MM2T 症例の病理像を解析した。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 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. 2018; 2:12(1):54-62.

- 2) Cali I, Cohen ML, Haik 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.* 2018;6(1):5.
- 3) 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.* 2018;668:43-47.
- 4) 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.* 2018;496(4):1055-1061.
- 5) 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 beta-amyloid. *Brain Behav.* 2018;8(10):e01117.
- 6) 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.* 2018;38(6):638-645.
- 7) Takao M, Kimura H, Kitamoto T, Mihara B. PrP<sub>res</sub> deposition in the retina is a common finding of sporadic, familial and iatrogenic Creutzfeldt-Jakob diseases(CJD). *Acta Neuropathol Commun.* 2018;6(1):78.
- 8) 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- $\beta$  deposition. *Neuropathology.* 2018;38(5):549-556.
- 9) 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.* 2018;18(1):54.
- 10) Kobayashi A, Kitamoto T, Mizusawa H. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. *Handb Clin Neurol.* 2018;153:207-218.
- 11) 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 [<sup>18</sup>F]THK5351 PET in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol Commun.* 2018;6(1):53.

12) Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Hamaguchi T, Yamada M, Kitamoto T, Mizusawa H, Yokota T. Specific amyloid- $\beta$ 42 deposition in the brain of a Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease patient with a P105L mutation on the prion protein gene. *Prion*. 2018;12(5-6): 315-319.

13) 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*. 2019;29(2):155-163.

14) 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*. 2019;13(1):13-20.

15) 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*. 2019;1863(2):384-394.

16) 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*. 2019;189(3):677-686.

17) 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<sub>V180I</sub> Mutation. *Mol Neurobiol*. 2019.

## 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし