

厚生労働科学研究費補助金 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 総合研究報告書

## 医原性プリオン病と FFI プリオンの研究

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  
 研究協力者：竹内敦子 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。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。

さらにもう 1 つの研究として、従来大脳皮質で典型的な spongiform changes を示し、免疫染色でシナプス型の沈着を示すのは、MM1/MV1 をはじめとする M1 プリオンと信じていたが、今回同様の病理所見でタイプ 2 のプリオンが存在することを明らかとした。従来、タイプ 2 の皮質型は、大きな vacuolations を示し免疫染色で Perivacuolar deposits を示す MM2C とのみ考えていたが、典型的な spongiform changes を示す MM2C も存在する。現時点で MM2C (lv: large vacuole)、MM2C (sv: small vacuole) と区別した分類法を提唱するが、将来的には個々のプリオンの感染性が同じなのか、異なるのかを詳細に検討すべきである。

### 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 万例以上の下垂体が使用されており、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 sCJD 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 sCJD 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。

さらにもう 1 つの研究として、本研究のきっかけは、FFI らしくない症例の感染実験である。FFI の親子例で、典型的な FFI の子供と、海綿状脳症が主な病理像の非典型例の母親の感染実験をすると全く異なる感染性が示された。子供は Ki-ChM への感染実験に成功し、Ki-bank vole には感染が成立せず、母親の方は、全くその逆で Ki-bank vole にのみ感染が成立したのである。そこで、これらの感染性の違いが視床型 CJD でも見られるのかを検討した。

### 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。

さらにもう 1 つの研究として、わが国で剖検された視床型 CJD 10 例に関して組織学的検討を加え、そのうち 3 症例の感染実験を行った。

{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。

さらにもう 1 つの研究では、感染実験は、ヒト型ノックインマウスである Ki-129Met/Met と Ki-129Val/Val マウスに加えて、Ki-ChM、Ki-bank vole に関しても頭蓋内に症例の脳乳剤を投与した。

(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。

さらにもう 1 つの研究として、感染実験に使用した 3 例は、いずれの症例もヒト型ノックインマウスには感染が成立しなかった。また、視床型 CJD が FFI の孤発性と呼ばれるように、典型的 FFI と同様に全ての症例で Ki-ChM に感染が成立した。詳細は表 2 に示した。(352d) は平均の潜伏期間が 352 日であることを示している。

表 2 の T00/06 症例は、興味あることに Ki-bank vole への感染も認められた。この症例を詳細に検討したところ、ウエスタンブロットでも、非典型例の FFI と同様に PrP<sup>res</sup> の量が多く、また組織学的にも spongiform changes が中等度に認められた。つまり、T00/06 症例は、典型的な視床型 CJD の病変である視床変性と下オリブ核の変性に加えて、大脳皮質病変も強いことが明らかとなった。

また、感染実験は未施行であるが、視床型 CJD 10 例のうち、2 例で大脳皮質に広範な spongiform changes を認め、その 2 例に関しては明らかに PrP<sup>res</sup> の量も多いことが判明した。

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、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。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。

さらにもう1つの研究では、従来、視床型CJDと診断された症例の中にも、FFIの非典型例で検出された新しいプリオンをもつ症例が存在することが明らかとなった。今後は、この新しいプリオンが視床型CJD以外にも検出できるかを検討する必要がある。

## 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。さらにもう1つの研究では、タイプ2の分子量を示し、大脳皮質に典型的な海綿状脳症を引き起こす新しいプリオンが存在することを世界で初めて証明した。

## [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.
- 2) Takeuchi A, Mohri S, Kai H, Tamaoka A, Kobayashi A, Mizusawa H, Iwasaki Y, Yoshida M, Shimizu H, Murayama S, Kuroda S, Morita M, Parchi P and Kitamoto T. Two distinct prions in fatal familial insomnia and its sporadic form. *Brain Commun*, in press.
- 3) 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 widespread cerebral cortical involvement and Kuru plaques. *Neuropathology* 37:241-248, 2017.
- 4) 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* 11:284-292, 2017.
- 5) 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*. 23:1522-1530, 2017.
- 6) Takeuchi A, Kobayashi A, Morita M, Kitamoto T. Application of protein misfolding cyclic amplification for the rapid diagnosis of acquired Creutzfeldt-Jakob disease. *Med Res Arch* 5:1-11, 2017.
- 7) 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* 11:454-464, 2017.
- 8) 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* 59:671-674, 2018.

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 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* 37:420-425, 2017.
- 2) Iwasaki Y, Saito Y, Aiba I, Kobayashi A, Mimuro M, Kitamoto T, Yoshida M. An

- 2018.
- 9) 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* 12:54-62, 2018.
  - 10) 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* 6:5, 2018.
  - 11) 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.
  - 12) 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* 496:1055-1061, 2018.
  - 13) Ishizawa K, Mitsufoji 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* 8:e01117, 2018.
  - 14) 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.
  - 15) 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* 6:78, 2018.
  - 16) 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* 38:549-556, 2018.
  - 17) 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.
  - 18) Kobayashi A, Kitamoto T, Mizusawa H. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. *Handb Clin Neurol* 153:207-218, 2018.
  - 19) 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* 6:53, 2018.
  - 20) 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* 12:315-319, 2018.
  - 21) 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.
  - 22) 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.
- 23) 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.
- 24) Iwasaki Y, Hiraga K, Ito S, Ando T, Akagi A, Riku Y, Mimuro M, Miyahara H, Kobayashi A, Kitamoto T, Yoshida M. Autopsy case of MV2K-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with spongiform changes of the cerebral cortex. *Neuropathology* 39:452-460, 2019.
- 25) 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<sup>V180I</sup> Mutation. *Mol Neurobiol* 56:5456-5469, 2019.
- 26) Minikel EV, Vallabh SM, Orseth MC, Brandel JP, Haik S, Laplanche JL, Zerr I, Parchi P, Capellari S, Safar J, Kenny J, Fong JC, Takada LT, Ponto C, Hermann P, Knipper T, Stehmann C, Kitamoto T, Ae R, Hamaguchi T, Sanjo N, Tsukamoto T, Mizusawa H, Collins SJ, Chiesa R, Roiter I, de Pedro-Cuesta J, Calero M, Geschwind MD, Yamada M, Nakamura Y, Mead S. Age at onset in genetic prion disease and the design of preventive clinical trials. *Neurology* 93:e125-e134, 2019.
- 27) Hayashi Y, Iwasaki Y, Waza M, Shibata H, Akagi A, Kimura A, Inuzuka T, Satoh K, Kitamoto T, Yoshida M, Shimohata T. Clinicopathological findings of an MM2-cortical-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease patient with cortical blindness during a course of glaucoma and age-related macular degeneration. *Prion* 13:124-131, 2019.
- 28) Iwasaki Y, Kato H, Ando T, Akagi A, Mimuro M, Miyahara H, Kobayashi A, Kitamoto T, Yoshida M. Autopsied case of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease classified as MM1+2C-type. *Neuropathology* 39:240-247, 2019.
- 29) Rossi M, Kai H, Baiardi S, Bartoletti-Stella A, Carlà B, Zenesini C, Capellari S, Kitamoto T, Parchi P. The characterization of AD/PART co-pathology in CJD suggests independent pathogenic mechanisms and no cross-seeding between misfolded A $\beta$  and prion proteins. *Acta Neuropathol Commun.* 7:53, 2019.
- 30) Kobayashi A, Iwasaki Y, Takao M, Saito Y, Iwaki T, Qi Z, Torimoto R, Shimazaki T, Munesue Y, Isoda N, Sawa H, Aoshima K, Kimura T, Kondo H, Mohri S, Kitamoto T. A novel combination of prion strain co-occurrence in patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Am J Pathol* 189:1276-1283, 2019.
- 31) Akagi A, Iwasaki Y, Hashimoto R, Aiba I, Inukai A, Mimuro M, Riku Y, Miyahara H, Kitamoto T, Yoshida M. A case of M232R genetic Creutzfeldt-Jakob disease with Lewy bodies. *J Neurol Sci* 409:116605, 2020.
- 32) Matsuura Y, Ishikawa Y, Murayama Y, Yokoyama T, Somerville RA, Kitamoto T, Mohri S. Eliminating transmissibility of bovine spongiform encephalopathy by dry-heat treatment. *J Gen Virol* 101:136-142, 2020.
- 33) Ikeda T, Iwasaki Y, Sakurai K, Akagi A, Riku Y, Mimuro M, Miyahara H, Kitamoto T, Matsukawa N, Yoshida M. Correlating diffusion-weighted MRI intensity with type 2 pathology in mixed MM-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 408:116515, 2020.
- 34) 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 Knockout Reduces Prion Disease Incubation Time in Mouse Models. *Am J Pathol* 189:677-686, 2019.

2. 学会発表

なし

2. 実用新案登録

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

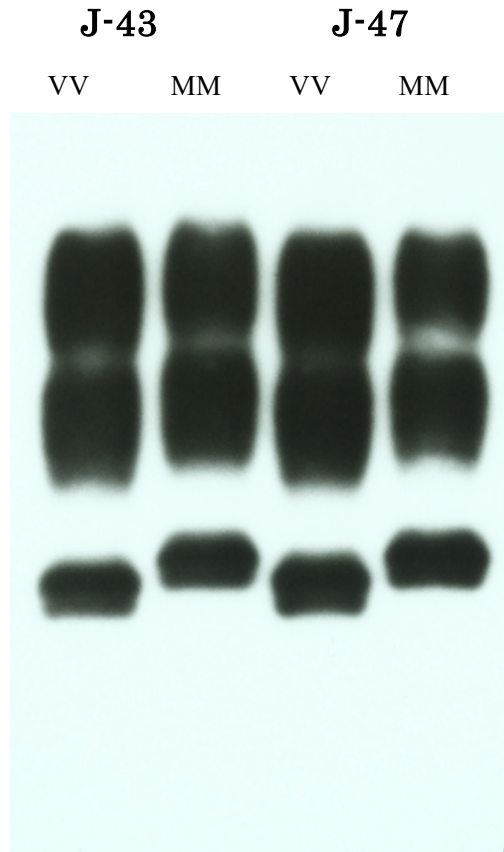
1. 特許取得

なし

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%

【表 2】

	Ki-ChM	Ki-Bank vole
H-91	4/6 (352d)	0/7
I-110	3/6 (393d)	0/4
T00/06	5/6 (536d)	2/6(698d)