

厚生労働行政推進調査事業費補助金（難治性疾患政策研究事業）

（総合）分担研究報告書

研究課題：プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究

サーベイランスの遺伝子解析

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 29 年 10 月 1 日から令和 1 年 9 月 30 日までのプリオン蛋白遺伝子を解析した。症例数は、620 例であった。このうち、プリオン蛋白遺伝子変異を認めたのは、141 例であり、V180I 変異が最も多く 89 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、ウェ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

各施設から送られてきた認知症などを示す症例 620 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シング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。また、動物実験に関しても所属施設の倫理委員会、動物実験委員会での承認済みである。

C. 研究結果

平成 29 年 10 月 1 日から令和 1 年 9 月 30 日までの遺伝子解析は以下のとおりであった。プリオン蛋白遺伝子を解析した症例数は、620 例であった。

プリオン蛋白遺伝子変異なし	479 例
129M/M, 219E/E	424 例
129M/V, 219E/E	34 例
129M/M, 219E/K	13 例
129V/V, 219E/E	2 例
129M/V, 219E/K	1 例
129M/M, 219K/K	3 例
24bp deletion	2 例

プリオン蛋白遺伝子変異あり	141 例
P102L	13 例
P105L	2 例 (うち 129M/V 2 例)
V180I	89 例 (うち 129M/V 21 例)
E200K	13 例
M232R	20 例
D178N	1 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。

D. 考察

基本的に遺伝子検索は例年通り V180I が最多であった。

E. 結論

620 例の遺伝子解析を行った。

F. 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 Jan 2;12(1):54-62. doi:10.1080/19336896.2017.1414130. Epub 2018 Jan 31.
- 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- β pathology: an international study. *Acta Neuropathol Commun*. 2018 Jan 8;6(1):5. doi:10.1186/s40478-017-0503-z.
- 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 Mar 6;668:43-47. doi:10.1016/j.neulet.2018.01.014. Epub 2018 Jan 9.
- 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 Feb 19;496(4):1055-1061. doi:10.1016/j.bbrc.2018.01.119. Epub 2018 Jan 31.
- 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 Oct;8(10):e01117. doi: 10.1002/brb3.1117. Epub 2018 Sep 21.
- 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 Dec;38(6):638-645. doi: 10.1111/neup.12516. Epub 2018 Sep 14.
- 7) Takao M, Kimura H, Kitamoto T, Mihara B. PrPres deposition in the retina is a common finding of sporadic, familial and iatrogenic Creutzfeldt-Jakob diseases(CJD). *Acta Neuropathol Commun.* 2018 Aug 10;6(1):78. doi:10.1186/s40478-018-0582-5. No abstract available.
- 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- β deposition. *Neuropathology.* 2018 Oct;38(5):549-556. doi: 10.1111/neup.12503. Epub 2018 Aug 6.
- 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 Apr 25;18(1):54. doi: 10.1186/s12883-018-1055-y.
- 10) Kobayashi A, Kitamoto T, Mizusawa H. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. *Handb Clin Neurol.* 2018;153:207-218. doi: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00012-X.
- 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 [18F]THK5351 PET in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol Commun.* 2018 Jun 29;6(1):53. doi:10.1186/s40478-018-0556-7.
- 12) Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Hamaguchi T, Yamada M, Kitamoto T, Mizusawa H, Yokota T. Specific amyloid- β 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. doi:10.1080/19336896.2018.1541689. Epub 2018 Nov 13.
- 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 Mar ;29(2):155-163. doi: 10.1111/bpa.12638. Epub 2018 Oct 29.
- 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 Jan;13(1):13-20. doi:10.1080/19336896.2018.1545525. Epub 2018 Nov 14.
- 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 Feb;1863(2):384-394. doi:10.1016/j.bbagen.2018.11.008. Epub 2018 Nov 14.
- 16) 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 PrPV180I Mutation. *Mol Neurobiol.* 2019 Aug;56(8):5456-5469. doi: 10.1007/s12035-018-1459-0. Epub 2019 Jan 5. PMID:30612334.
- 17) 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.* 2020 Feb 15;409:116605. doi: 10.1016/j.jns.2019.116605. Epub 2019 Nov 28. PMID: 31811987
- 18) 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.* 2020 Jan;101(1):136-142. doi: 10.1099/jgv.0.001335. PMID:31718739
- 19) 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.* 2020 Jan 15;408:116515. doi: 10.1016/j.jns.2019.116515. Epub 2019 Oct 22. PMID:31675505
- 20) 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.* 2019 Dec;39(6):452-460. doi: 10.1111/neup.12595. Epub 2019 Sep 12. PMID:31515858
- 21) Minikel EV, Vallabh SM, Orseth MC, Brandel JP, Haïk 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.* 2019 Jul 9;93(2):e125-e134. doi:10.1212/WNL.00000000000007745. Epub 2019 Jun 6.
- 22) 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.* 2019 Jan;13(1):124-131. doi:10.1080/19336896.2019.1631680. PMID:31219399
- 23) 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.* 2019 Jun;39(3):240-247. doi: 10.1111/neup.12557. Epub 2019 May 7. PMID:31062411
- 24) 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 β and prion proteins. *Acta Neuropathol Commun.* 2019 Apr 8;7(1):53. doi: 10.1186/s40478-019-0706-6. PMID:30961668
- 25) 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.* 2019 Jun;189(6):1276-1283. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.02.012. Epub 2019 Mar 27. PMID:30926338
- 26) Wang Z, Yuan J, Shen P, Abskharon R, Lang Y, Dang J, Adornato A, Xu L, Chen J, Feng J, Moudjou M, Kitamoto T, Lee HG, Kim YS, Langeveld J, Appleby B, Ma J, Kong Q, Petersen RB, Zou WQ, Cui L. Correction to: In Vitro Seeding Activity of Glycoform-Deficient Prions from Variably Protease-Sensitive Prionopathy and Familial CJD Associated with PrPV180I Mutation. *Mol Neurobiol.* 2019 Aug;56(8):5470. doi: 10.1007/s12035-019-1508-3. PMID:30707392
- 27) 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.* 2019 Mar;189(3):677-686. doi: 10.1016/j.ajpath.2018.11.009. Epub 2018 Dec 13. PMID:30553837

2. 学会発表

なし

G. 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