

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）
 分担研究報告書
 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班

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

2019年10月1日から2020年9月30日までのプリオン蛋白遺伝子解析を行った症例数は、304例であった。プリオン蛋白遺伝子の変異なしの症例が216例、そしてプリオン蛋白遺伝子に変異ありの症例が88例であった。さらに、コドン219Glu/Lysの正常多型が発病を抑制する効果を各プリオン病で検討したので報告する。

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

各施設から送られてきた認知症などを示す症例304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。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

（結果 1）

2019年10月1日から2020年9月30日までの症例数は、304例であった。

変異なしは、216例、変異ありは88例で内訳は以下の通りでした。

プリオン蛋白遺伝子変異なし	216 例
129M/M, 219E/E	204例
129M/V, 219E/E	3例
129M/M, 219E/K	7例
129M/M, 219K/K	1例
129M/V, 219E/K	1例

プリオン蛋白遺伝子変異あり	88 例
P102L	4例
D178N	1例
V180I	63例（129M/Vは11例）
E200K	10例（129M/V 1例、219E/K 1例）
V210I	1例
M232R	9例

依然として、プリオン蛋白変異では、圧倒的にV180I変異が多いことが分かる。

（結果 2）

サーベイランスも20年を超えて、東北症例数が増え当初 sporadic CJD で報告してきた219Glu/Lysの正常多型のprotective effectがほかのプリオン病でも認められるのかを検討した結果を報告する。

Sporadic CJD Odd Ratio 28.31
 V180Iは404例で全く219E/Kを認めなかったが、もし1例あったと仮定すると Odd Ratio

45.7

E200K Odd Ratio 3.21

M232R Odd Ratio 10.56

P102L Odd Ratio 3.77

硬膜移植例は、Odd Ratio 1.23 で protective effect なし

D. 考察

遺伝子検索の結果は、基本的に例年通りであった。

驚くべき結果は、E219Kの発病予防効果であるが孤発性プリオン病だけでなく家族性プリオン病のなかで、penetrance 40%のE200Kやpenetrance ほぼ100%のGSS102においてもオッズ比3以上の予防効果があることが明らかとなった。これは、サーベイランスを続けて症例数が蓄積して初めて得られた結果である。しかしながら、硬膜移植例のように、他の症例からすでに出来上がった異常型プリオン蛋白が侵入してくるacquired formでは予防効果は認められなかった。

E. 結論

304例の遺伝子解析を行った。また、E219Kの幅広い発病予防効果が明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sakai K, Hamaguchi T, Sanjo N, Murai H, Iwasaki Y, Hamano T, Honma M, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Nakamura Y, Kitamoto T, Harada M, Mizusawa H, Yamada M. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 2020; 418:117094.
- 2) Matsuzono K, Kim Y, Honda H, Anan Y, Tsunoda M, Amano Y, Fukusima N, Iwaki T, Kitamoto T, Fujimoto S. Prion gene PRNP Y162X truncation mutation can induce a refractory esophageal achalasia. *Am J Gastroenterol*, in press.
- 3) Hayashi Y, Iwasaki Y, Waza M, Kato S, Akagi A, Kimura A, Inuzuka T, Satoh K, Kitamoto T, Yoshida M, Shimohata T. Clinicopathological findings of a long-term survivor of V180I genetic Creutzfeldt-Jakob disease. *Prion* 2020; 14:109-117.
- 4) Hamaguchi T, Sakai K, Kobayashi A, Kitamoto T, Ae R, Nakamura Y, Sanjo N, Arai K, Koide M, Katada F, Harada M, Murai H, Murayama S, Tsukamoto T, Mizusawa H, Yamada M. Characterization of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease and history of neurosurgery to identify potentially iatrogenic cases. *Emerg Infect Dis* 2020; 26:1140-1146.
- 5) Nomura T, Iwata I, Naganuma R, Matsushima M, Satoh K, Kitamoto T, Yabe I. A patient with spastic paralysis finally diagnosed as V180I genetic Creutzfeldt-Jakob disease 9 years after onset. *Prion* 2020; 14:226-231.
- 6) Kobayashi A, Hirata T, Nishikaze T, Ninomiya A, Maki Y, Takada Y, Kitamoto T, Kinoshita T. α 2,3 linkage of sialic acid to a GPI anchor and an unpredicted GPI attachment site in human prion protein. *J Biol Chem* 2020; 295:7789-7798.
- 7) Akagi A, Iwasaki Y, Yamamoto A, Matsuura H, Ikeda T, Mimuro M, Riku Y, Miyahara H, Kitamoto T, Yoshida M. Identification of intracerebral hemorrhage in the early-phase of MM1+2C-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: A case report. *Neuropathology* 2020; 40:399-406.
- 8) Honda H, Matsuzono K, Satoh K, Fujisawa M, Suzuki SO, Furuyama C, Kitamoto T, Fujimoto S, Abe K, Iwaki T. Detection of cutaneous prion protein deposits could help diagnose GPI-anchorless prion disease with neuropathy. *Eur J Neurol*, in press.
- 9) Iwasaki Y, Mori K, Ito M, Kawai Y, Akagi A, Riku Y, Miyahara H, Kobayashi A, Kitamoto T, Yoshida M. System degeneration in an MM1-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease case with an unusually prolonged akinetic mutism state. *Prion* 2021; 15:12-20.
- 10) Shintaku M, Nakamura T, Kaneda D, Shinde A, Kusaka H, Takeuchi A,

Kitamoto T. Genetic Creutzfeldt-Jakob disease-M232R with the cooccurrence of multiple prion strains, M1 + M2C + M2T: Report of an autopsy case. *Neuropathology*, in press.

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

