

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

2019年10月1日から2021年9月30日までの2年間でプリオン蛋白遺伝子解析を行った症例数は、617例であった。プリオン蛋白遺伝子の変異なしの症例が449例、そしてプリオン蛋白遺伝子に変異ありの症例が168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617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

2019年10月1日から2021年9月30日までの症例数は、617例であった。

変異なしは、449例、変異ありは168例で内訳は以下の通りだった。

プリオン蛋白遺伝子変異なし	449例
129M/M, 219E/E	411例
129M/V, 219E/E	19例
129V/V, 219E/E	2例
129M/M, 219E/K	13例
129M/M, 219K/K	2例
129M/V, 219E/K	1例
24bp deletion	1例

プリオン蛋白遺伝子変異あり	168例
P102L	10例
D178N	2例
V180I	117例 (129M/Vは24例)
E200K	18例(129M/V 1例、219E/K 2例)
V210I	1例
V180I, M232R	1例
M232R	18例
E200K, M232R	1例

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

D. 考察

サーベイランスの遺伝子解析に関しては、E219K正常多型が孤発性CJDだけでなく、V180I変異やM232R変異といった浸透率の低い変異だけでなくP102Lという浸透率ほぼ100%の変異でもその発病阻止に働くことが明らかになった。しかし、2021年度の報告でも1症例あったように、E200Kの変異症例でE219Kが発病阻止には効果がないという結果が得られ

つつある。この事実は、E219K の発病阻止に働くメカニズムを考えるうえで重要な疫学結果であると考えられる。例えば、1つの仮説としてプリオン蛋白の異常化には homodimer となる必要があると仮定すると、E219K のヘテロの症例では、グルタミン酸というマイナスチャージとリジンというプラスチャージによって起こるイオン結合によって必然的に heterodimer となってしまう、異常化を阻止するという可能性である。一方、E200K の患者で、E219K が存在するときには 200K+219E-分子がヘリックス C の両端に存在することで homodimer という形が成立し、219K と 219E のイオン結合による heterodimer 形成以外にも homodimer 化が可能であるという点で抑制効果が認められないという仮説が考えられる。このマイナスチャージからプラスチャージへのアミノ酸変化は、現時点で我が国に存在する V180I 変異、M232R 変異、P102L 変異では認められず、唯一世界的には E196K 変異があるが、頻度は少なくコドン 196 はヘリックス C には存在しないのでわが国で検討することは困難である。

E. 結論

E219K の正常多型は、孤発性プリオン病だけでなく、遺伝性プリオン病でも発病阻止効果が認められる正常多型であるが、わが国のサーベイランスの結果 E200K 変異に関しては、発病阻止効果がないことが明らかとなった。これは、E219K の発病阻止機構を解明する上で大きな手掛かりとなる結果である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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 Nov 15;418:117094. doi: 10.1016/j.jns.2020.117094. Epub 2020 Aug 13.
- 4) 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 Dec;14(1):109-117. doi: 10.1080/19336896.2020.1739603.
- 5) 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 Potential Iatrogenic Cases. *Emerg Infect Dis.* 2020 Jun;26(6):1140-1146. doi: 10.3201/eid2606.181969.
- 6) 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.
- 7) 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 Dec;14(1):226-231. doi: 10.1080/19336896.2020.1823179.
- 8) Takahashi-Iwata I, Yabe I, Kudo A, Eguchi K, Wakita M, Shirai S, Matsushima M, Toyoshima T, Chiba S, Tanikawa S, Tanaka S, Satoh K, Kitamoto T, Sasaki H.
MM2 cortical form of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease without progressive dementia and akinetic mutism: A case deviating from current diagnostic criteria. *J Neurol Sci.* 2020 May 15;412:116759.

- doi: 10.1016/j.jns.2020.116759. Epub 2020 Feb 24.
- 9) Kobayashi A, Hirata T, Nishikaze T, Ninomiya A, Maki Y, Takada Y, Kitamoto T, Kinoshita T. $\alpha 2,3$ linkage of sialic acid to a GPI anchor and an unpredicted GPI attachment site in human prion protein. *J Biol Chem.* 2020 May 29;295(22):7789-7798. doi: 10.1074/jbc.RA120.013444. Epub 2020 Apr 22.
- 10) Cali I, Puoti G, Smucny J, Curtiss PM, Cracco L, Kitamoto T, Occhipinti R, Cohen ML, Appleby BS, Gambetti P. Co-existence of PrP^D types 1 and 2 in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease of the VV subgroup: phenotypic and prion protein characteristics. *Sci Rep.* 2020 Jan 30;10(1):1503. doi: 10.1038/s41598-020-58446-0.
- 11) 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 Aug;40(4):399-406. doi: 10.1111/neup.12658. Epub 2020 May 4.
- 12) 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.* 2021 Jun 1;116(6):1350-1351. doi: 10.14309/ajg.0000000000001044.
- 13) 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.* 2021 Jun;28(6):2133-2137. doi: 10.1111/ene.14720. Epub 2021 Jan 22.
- 14) 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 Dec;15(1):12-20. doi: 10.1080/19336896.2020.1868931.
- 15) 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.* 2021 Jun;41(3):206-213. doi: 10.1111/neup.12722. Epub 2021 Feb 14.
- 16) Zhang W, Xiao X, Ding M, Yuan J, Foutz A, Moudjou M, Kitamoto T, Langeveld JPM, Cui L, Zou WQ. Further Characterization of Glycoform-Selective Prions of Variably Protease-Sensitive Prionopathy. *Pathogens.* 2021 Apr 23;10(5):513. doi: 10.3390/pathogens10050513. PMID: 33922765 Free PMC article.
- 17) Kobayashi A, Munosue Y, Shimazaki T, Aoshima K, Kimura T, Mohri S, Kitamoto T. Potential for transmission of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease through peripheral routes. *Lab Invest.* 2021 Oct;101(10):1327-1330. doi: 10.1038/s41374-021-00641-2. Epub 2021 Jul 12. PMID : 34253850.
- 18) Matsuzono K, Kim Y, Honda H, Anan Y, Hashimoto Y, Sano I, Iwaki T, Kitamoto T, Fujimoto S. Optic nerve atrophy and visual disturbance following PRNP Y162X truncation mutation. *J Neurol Sci.* 2021 Sep 15;428:117614. doi: 10.1016/j.jns.2021.117614. Epub 2021 Aug 12. PMID: 34403953 No abstract available.
- 19) Cali I, Espinosa JC, Nemani SK, Marin-Moreno A, Camacho MV, Aslam R, Kitamoto T, Appleby BS, Torres JM, Gambetti P. Two distinct conformers of PrP^D type 1 of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with codon 129VV genotype faithfully propagate in vivo. *Acta Neuropathol Commun.* 2021 Mar 25;9(1):55. doi: 10.1186/s40478-021-01132-7. PMID: 33766126 Free PMC article.

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