

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

2021年10月1日から2022年9月30日までの症例数は、368例でした。変異なしは、264例、変異ありは104例であった。また、V180I症例の異常プリオン蛋白量の少なさが、感染性に影響を及ぼすのかをM1プリオンとV2プリオンの希釈実験を行って検討した。M1プリオン、V2プリオンとも高倍率の希釈でも感染性が証明され、V180Iプリオンの感染が成立しないのは、PrPresの量が少ないという理由ではないことが明らかとなった。

A. 研究目的

CJDサーベイランス事業として、我々はプリオン蛋白の遺伝子解析を担当している。遺伝子解析は、単に遺伝性プリオン病の診断だけでなく、プリオン病の臨床経過、検査所見などを比較する際に、同じ遺伝子型で比較することが求められているので、科学的に孤発性CJDと診断するには無くてはならない情報である。

B. 研究方法

遺伝子解析

患者さんの末梢血液の白血球から genome DNA を抽出し、PRNP 領域を増幅した。プリオン蛋白遺伝子を PCR direct sequence 法にて解析し、変異と正常多型が同時にヘテロで検出された症例では、クローニングにてどのアレルに変異が存在するのかを同定した。

感染実験

MM1プリオンとVV2プリオンの脳乳剤を、 10^{-1} 希釈から 10^{-7} 希釈まで連続で希釈し、それぞれの希釈液を 20μ 1頭蓋内に投与した。投与後、発病したKi-129M/M, Ki-129V/Vマウスは脳半球をホルマリン固定後組織学的に解析し、もう一方の半球を凍結後必要ならばWestern blotにて解析した。

(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。動物実験についても東北大学の動物実験委員会に許可を得ている。

C. 研究結果

遺伝子解析結果

変異なし	264 例
129M/M, 219E/E	224 例
129M/V, 219E/E	23 例
129M/M, 219E/K	14 例
129M/M, 219K/K	1 例
24bp deletion	2 例
変異あり	104 例
P102L	8 例
P105L	1 例
V180I	72 例 (129M/V は 18 例)
E196K	1 例
E200K	9 例 (219E/K 1 例)
V180I, M232R	2 例
V203I	1 例
M232R	9 例
216bp insertion	1 例

感染実験結果

前年度の報告でV180Iの感染実験は、試みた全てのノックインマウスで感染不成立であった。その理由として、V180IのPrPresの量がsCJDに比較すると少量であることが問題となった。そこで、sCJDの典型的症例であるMM1とVV2に関してどの程度の希釈まで感染が成立するのかを検討した。

MM1では、Ki-129M/Mというノックインマウスを用いた感染実験で、 10^{-4} まで希釈しても 656 ± 83.5 日という潜伏期間で100%のモデル動物が発病した。

一方、VV2では、Ki-129V/Vというノックイン

マウスを用いた感染実験で、 10^{-5} まで希釈しても 440 ± 31.3 日という潜伏期間で 100% のモデル動物が発病することが明らかとなった。ちなみに、昨年度報告した V180I プリオンの感染実験は、すべて 10^{-1} 希釈の脳乳剤を用いたものである。

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りつつある。しかし、今回の報告でも 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、昨年度報告したように、E219K の発病抑制効果が 219E と 219K のイオン結合によって heterodimer 化することによるという仮説を裏付ける追加症例である。

また、M1 プリオンを 10^{-4} 希釈しても、V2 プリオンを 10^{-5} 希釈しても 100% のモデル動物が発病するという事実は、V180I プリオンの PrPres の量がいくら少ないといっても、M1 プリオンや V2 プリオンの 10% 程度であることを考えれば V180I プリオンが感染しないという事実は、単に PrPres が少ないということではなく、V180I プリオンそのものに感染不成立の原因であると言えよう。

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。

さらに、V180I プリオンの感染不成立は、異常型プリオン蛋白の量が少ないからという理由ではないことが明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kosami K, Ae R, Hamaguchi T, Sanjo N, Tsukamoto T, Kitamoto T, Yamada M, Mizusawa H, Nakamura Y. Methionine homozygosity for PRNP

polymorphism and susceptibility to human prion diseases.

J Neurol Neurosurg Psychiatry.

2022 Jul;93(7):779-784.

doi: 10.1136/jnnp-2021-328720. Epub

2022 Apr 6. PMID: 35387866

- 2) Matsubayashi T, Akaza M, Hayashi Y, Hamaguchi T, Satoh K, Kosami K, Ae R, Kitamoto T, Yamada M, Shimohata T, Yokota T, Sanjo N. Specific electroencephalogram features in the very early phases of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. J Neurol Sci. 2022 Jun 15;437:120265. doi: 10.1016/j.jns.2022.120265. Epub 2022 Apr 18. PMID: 35472604
- 3) Suzuki Y, Sugiyama A, Muto M, Satoh K, Kitamoto T, Kuwabara S. Early Diagnosis of V180I Genetic Creutzfeldt-Jakob Disease at the Preserved Cognitive Function Stage. Cureus. 2022 Mar 21;14(3):e23374. doi: 10.7759/cureus.23374. eCollection 2022 Mar. PMID: 35475058
- 4) Yasuda M, Sugiyama A, Hokkoku H, Suichi T, Ito K, Satoh K, Kitamoto T, Kuwabara S. Propagation of Diffusion-Weighted MRI Abnormalities in the Preclinical Stage of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease. Neurology. 2022 Oct 18;99(16):699-702. doi: 10.1212/WNL.0000000000201221. PMID: 36253132
- 5) Matsuo K, Goto D, Hasegawa M, Ogita K, Koyama T, Akagi A, Kitamoto T, Yoshida M, Iwasaki Y. An autopsy case of MV2K-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease presenting with characteristic clinical, radiological, and neuropathological findings. Neuropathology. 2022 Jun;42(3):245-253. doi: 10.1111/neup.12804. Epub 2022 Apr 19. PMID: 35441383
- 6) Kai H, Teruya K, Takeuchi A, Nakamura Y, Mizusawa H, Yamada M, Kitamoto T. Preventive or promotive effects of PRNP polymorphic heterozygosity on the onset of prion disease. Heliyon. 2023 Feb 24;9(3):e13974. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e13974. eCollection 2023 Mar.
- 7) Kobayashi A, Hirata T, Shimazaki T, Munesue Y, Aoshima K, Kimura T, Nio-Kobayashi J, Hasebe R, Takeuchi A, Matsuura Y, Kusumi S, Koga D, Iwasaki Y, Kinoshita T, Mohri S, Kitamoto T.

A point mutation in GPI-attachment signal peptide accelerates the development of prion disease. *Acta Neuropathol.* 2023 Mar 6.
doi: 10.1007/s00401-023-02553-5. Online ahead of print.

- 8) Shima A, Sakai K, Yamashita F, Hamaguchi T, Kitamoto T, Sasaki M, Yamada M, Ono K. Vacuoles related to tissue neuron-astrocyte ratio and infiltration of macrophages/monocytes contribute to hyperintense brain signals on diffusion-weighted magnetic resonance imaging in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci.* 2023 Mar 6;447:120612.
doi:10.1016/j.jns.2023.120612. Online ahead of print.

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

