

論 文 内 容 要 旨

題目 Effects of prion protein devoid of the N-terminal residues 25-50 on prion pathogenesis in mice

(N 末端側アミノ酸残基 25-50 を欠くプリオン蛋白質のマウスにおけるプリオン病原性に対する影響)

著者 Nandita Rani Das, Hironori Miyata, Hideyuki Hara, Keiji Uchiyama, Junji Chida, Masashi Yano, Hitomi Watanabe, Gen Kondoh, Suehiro Sakaguchi

平成 29 年発行 Archives of Virology 掲載予定

内容要旨

ヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病 (以下、CJD) をはじめとするプリオン病は、感染性蛋白質「プリオン」の脳内蓄積により起こる致死性の神経変性疾患である。プリオンは、蛋白質分解酵素抵抗性の異常プリオン蛋白質 (以下、異常 PrP) からできている。プリオンが感染すると、異常 PrP が主に神経細胞に発現する宿主の正常 PrP に作用し、正常 PrP の蛋白質構造を異常 PrP の蛋白質構造へと変換させる。この反応が順次繰り返され、異常 PrP が大量に産生され、その結果プリオンが増加し、プリオン病が起こる。しかし、正常 PrP が異常 PrP に変換する詳細なメカニズムは不明である。

正常 PrP 欠損 (PrP^{-/-}) マウスは、正常 PrP が欠損するためにプリオンを接種しても異常 PrP が産生できず、プリオン病を発症しない。一方、PrP^{-/-} マウスに PrP 遺伝子をトランスジェーンとして導入すると、正常 PrP が発現しプリオンに対する感受性が回復しプリオン病を発症する。以上の結果は、異常 PrP への変換における正常 PrP の構造・機能相関を、リバーシジェネティクス手法を用いて研究できることを明らかにした。このリバーシジェネティクスを用いて、正に荷電した領域 (アミノ酸 23-31) が異常 PrP への変換に重要であることが明らかにされた。つまり、この領域を欠損する正常 PrP (以下、PrP Δ 23-31) を発現するトランスジェニック (Tg) PrP^{-/-} マウスでは、プリオンを感染させると異常 PrP の産生が抑制され、発症が著明に遅延することが報告された。しかし、この領域のどの部位が異常 PrP への変換に重要なのか不明である。

申請者が所属する研究室では、この領域のアミノ酸 25-31 を含んだ領域 (アミノ酸 25-50) を欠損する正常 PrP (以下、PrP Δ preOR) の Tg マウスを既に

様式(8)

樹立していた。しかし、この Tg マウスは、PrP Δ preOR の脳内発現量が正常 PrP と比べて 0.5 倍と低く、そのためにプリオン感染には不向きであることが判明した。そこで申請者は、PrP Δ preOR の発現量が高い Tg マウスの作製を行なうことにした。その結果、正常 PrP より PrP Δ preOR の発現量が 1.1 倍と 1.6 倍高い 2 系統の Tg マウスを樹立することに成功した。次に、これらの Tg マウスと PrP-/-マウスとを交配し、内因性の正常 PrP を発現しない PrP Δ preOR のみを発現する Tg(PrP Δ preOR)/PrP-/-マウスを作製した。そして、これらのマウスに 2 種類の異なるプリオン株 (RML 株と 22L 株) を脳内接種した。その結果、RML 株を感染した低発現 Tg(PrP Δ preOR)/PrP-/-マウスでは、プリオン病の発症がコントロールマウスと比べて有意であるが僅かに延長した。しかし、22L 株を感染した低発現 Tg(PrP Δ preOR)/PrP-/-マウスでは、潜伏期の延長は認められなかった。低発現 Tg マウスにおける異常 PrP の産生はコントロールマウスと比べて低下していたが、RML 株を感染した Tg マウスは、22L 株を感染させた Tg マウスより少ない量の異常 PrP を産生していた。一方、高発現 Tg(PrP Δ preOR)/PrP-/-マウスでは、PrP Δ preOR の高発現のために、RML 株及び 22L 株を感染させると潜伏期がコントロールマウスの潜伏期と比べて有意に短縮した。高発現 Tg(PrP Δ preOR)/PrP-/-マウスの異常 PrP の産生量は、コントロールマウスの異常プリオンより低下していた。これらの結果は、Tg(PrP Δ 23-31)/PrP-/-マウスと異なり、Tg(PrP Δ preOR)/PrP-/-マウスでは異常 PrP の産生の抑制が少なく、プリオン病の進行の遅延も僅かであることを示した。アミノ酸 23-31 の中で、アミノ酸 25-31 が PrP Δ preOR の欠損領域 (アミノ酸 25-50) に含まれる。従って、アミノ酸 23-31 の中で、アミノ酸 25-31 以外のアミノ酸 23-24 が異常 PrP への変換に重要であることが考えられた。しかし、アミノ酸 23-31 の中で、アミノ酸 23-26 以外のアミノ酸 27-31 が異常 PrP への変換に重要であるという、申請者らの結果と異なる報告がある。この報告と申請者らの結果を合わせると、正常 PrP の N 末領域 (アミノ酸 23-31) はアミノ酸 23-24 とアミノ酸 27-31 の両方を介して異常 PrP への変換に関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1336号	氏名	Nandita Rani Das
審査委員	主査 福井 清 副査 木戸 博 副査 松本 満		

題目 **Effects of prion protein devoid of the N-terminal residues 25-50 on prion pathogenesis in mice**
 (N 末端側アミノ酸残基 25-50 を欠くプリオン蛋白質のマウスにおけるプリオン病原性に対する影響)

著者 Nandita Rani Das, Hironori Miyata, Hideyuki Hara, Keiji Uchiyama, Junji Chida, Masashi Yano, Hitomi Watanabe, Gen Kondoh, Suehiro Sakaguchi
 平成 29 年発行 Archives of Virology 掲載予定
 (主任教授 坂口 末廣)

要旨 プリオン病の病原体「プリオン」は、蛋白質分解酵素抵抗性の異常プリオン蛋白質（以下、異常 PrP）からできている。プリオンが感染すると、主に神経細胞に発現する宿主の正常 PrP に異常 PrP が作用し、正常 PrP を異常 PrP へと構造変換させる。その結果、異常 PrP が蓄積し、プリオン病が起こる。しかし、正常 PrP のどの領域がプリオン感染に重要か十分に解明されていない。申請者らは、N 末端側アミノ酸 25-50 を欠損する PrP（以下、PrP Δ preOR）を正常 PrP より 1.1 倍及び 1.6 倍高く発現する 2 系統のトランスジェニック (Tg) マウスに、2 種類の異なるプリオン株（RML 株と 22L 株）を脳内接種し、プリオン感染におけるアミノ酸 25-50 の役割を調べた。

得られた結果は、以下の通りである。

- 1) RML 株を感染した低発現 Tg マウスでは、プリオン病の発症がコントロールマウスと比べて遅延した。しかし、22L 株を感染した低発現 Tg マウスでは、潜伏期の延長は認められなかった。
- 2) 異常 PrP の産生は RML 株及び 22L 株を感染した低発現 Tg マウスにおいて、コントロールマウスと比べて低下していた。また、RML 株を感染した低発現 Tg マウスは、22L 株を感染させた低発現 Tg マウスより異常 PrP の産生は少なかった。
- 3) 高発現 Tg マウスでは、PrP Δ preOR が高発現のため、RML 株及び 22L 株を感染させると潜伏期がコントロールマウスの潜伏期と比べて有意に短縮した。
- 4) 高発現 Tg マウスでは、異常 PrP の産生はコントロールマウスよりプリオン株依存的に低下していた。

以上の結果は、正常 PrP のアミノ酸 25-50 がプリオン感染及び異常 PrP の産生にプリオン株依存的に関与することを示すものである。

本研究はプリオン感染における正常 PrP の N 末端側アミノ酸 25-50 の役割を明らかにし、プリオン感染のメカニズム解明に貢献する研究である。よって、学位授与に値すると判定した。