

日時：平成16年12月7日（火）
午後1時30分～
於：ホテルフロラシオン青山

「BSEと合成プリオン」

(講演要旨)

スタンリー・プルシナー教授

(米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校神経変性疾患研究所)

2003年、米国及びカナダで牛海綿状脳症(BSE)が報告された。BSEの診断は、免疫組織化学検査とウェスタンブロット法によって脳幹にPrP^{Sc}を確認することにより行われた。BSE以外にも、プリオンは、ヒトのクロイツフェルトヤコブ病(CJD)、ヒツジのスクレイピー及び鹿・エルクの慢性消耗性疾患(CWD)の原因となる。

プリオンに関する研究から4つの新しい概念が生じた。1つは、プリオンは核酸を持たない感染性を持つ蛋白質であること、2つ目は、プリオン病は感染性、遺伝性、そして孤発性の疾患として出現すること、3つ目は、プリオン病は前駆物質のPrP^Cとは構造が実質的に異なるPrP^{Sc}が蓄積された結果生じること、4つ目は、PrP^{Sc}には様々な構造が存在し、それぞれ特定の疾患の表現型であると考えられること、である。

哺乳動物のプリオンにはPrP^{Sc}しか含まれず、したがって、プリオンは感染性を有する蛋白質であるということが、大腸菌に作らせた組換え(rec)PrPを用いて近年証明された。我々は遺伝性プリオン病を調査するために用いられたトランスジェニック(Tg)マウス⁽¹⁾の脳へのアミロイドの沈着に注目し、シートを豊富に有する構造をもつ亜集団にからなるアミロイドに重合したrecPrPについて調査した。PrP^{Sc}のN末端を切断するとPrP27-30が形成され、容易に集合してアミロイドになる。マウス(Mo)PrP27-30は、89-230の残基を含み、プリオン感染性を保持する。我々はアミロイド線維を形成するため大腸菌に作らせたrecMoPrP(89-230)のみを用い、MoPrP(Δ23-88)を発現しているTgマウスに線維を脳内接種した⁽²⁾。300日以上経過後、中枢神経疾患の症状が出現したマウスはいなかった。したがって、我々はN末端が切断され折り畳まれてアミロイド線維になったMoPrP(89-230)には感染性がないと報告した⁽³⁾。その後我々は、Tg(MoPrP、Δ23-88)9949マウス全てに接種380～660日後に神経障害が生じたことを発見した。脳抽出物のウェスタンブロット分析によってプロテアーゼ抵抗性のPrPが明らかになった⁽⁴⁾。

哺乳動物合成プリオン(mammalian synthetic prions (MSP))を含むTg(MoPrP、Δ23-88)9949マウスの脳抽出物を、野生型(wild-type(wt))FVB及びTg(MoPrP)4053マウスへ継代感染したところ、潜伏期間150日及び90日でそれぞれ発症した。神経病理学的所見から新しいプリオン株が作られたことが示唆され、これはRML株とは異なる。我々の結果は、プリオンは感染性蛋白質であるという説と、孤発性プリオン病はPrP^CがPrP^{Sc}に自然に変換するだけで発症するという説を支持する説得力のある証拠を提供するものである。

孤発性CJDはヒトプリオン病の最も一般的な病型であることが示されているが⁽⁵⁾、ヒツジの孤発性スクレイピーとウシの孤発性BSEの頻度については、十分なデータはない。しかし、recMoPrP(89-230)からMSPが作られることは、宿主の哺乳動物がPrP^Cを産生しているだけで、いずれの孤発型のプリオン病も生じうることを示している。

参考文献

- 1 . Tremblay, P., Ball, H. L., Kaneko, K., Groth, D., Hegde, R. S., Cohen, F. E., DeArmond, S. J., Prusiner, S. B., and Safar, J. G. (2004) Mutant PrP^{Sc} conformers induced by a synthetic peptide and several prion strains. *J. Virol.* 78, 2088-2099
- 2 . Supattapone, S., Muramoto, T., Legname, G., Mehlhorn, I., Cohen, F. E., DeArmond, S. J., Prusiner, S. B., and Scott, M. R. (2001) Identification of two prion protein regions that modify scrapie incubation time. *J. Virol.* 75, 1408-1413
- 3 . Baskakov, I. V., Legname, G., Baldwin, M. A., Prusiner, S. B., and Cohen, F. E. (2002) Pathway complexity of prion protein assembly into amyloid. *J. Biol. Chem.* 277, 21140-21148
- 4 . Legname, G., Baskakov, I. V., Nguyen, H. -O. B., Riesner, D., Cohen, F. E., DeArmond, S. J., and Prusiner, S. B. (In preparation) Synthetic mammalian prions.
- 5 . Masters, C. L., Harris, J. O., Gajdusek, D. C., Gibbs, C. J., Jr., Bernouilli, C., and Asher, D. M. (1978) Creutzfeldt-Jakob disease: patterns of worldwide occurrence and the significance of familial and sporadic clustering. *Ann. Neurol.* 5, 177-188

Mad Cows and Synthetic Prions. Stanley B. Prusiner, Institute for Neurodegenerative Diseases, University of California, San Francisco, CA 94143-0518.

Mad cow disease was reported in both the United States and Canada in 2003. The diagnosis of bovine spongiform encephalopathy (BSE) was made by the finding of PrP^{Sc} in brainstems using immunohistochemistry and Western blotting. Besides BSE, prions cause Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) of humans, scrapie of sheep, and chronic wasting disease (CWD) of deer and elk. Four new concepts have emerged from studies of prions. First, prions are infectious proteins that are devoid of nucleic acid. Second, prion diseases may be manifest as infectious, genetic, and sporadic disorders. Third, prion diseases result from the accumulation of PrP^{Sc}, the conformation of which differs substantially from that of its precursor PrP^C. Fourth, PrP^{Sc} can exist in a variety of different conformations, each of which seems to specify a specific disease phenotype. That the mammalian prion contains only PrP^{Sc} and thus, prions are infectious proteins has recently been demonstrated by using recombinant (rec) PrP produced in *E. coli*. Impressed by amyloid deposition in the brains of transgenic (Tg) mice used to investigate the inherited prion diseases (1), we studied recPrP polymerized into amyloids, which represent a subset of β -rich structures. N-terminal truncation of PrP^{Sc} forms PrP 27-30, which readily assembles into amyloid. Mouse (Mo) PrP 27-30 contains residues 89 to 230 and retains prion infectivity. Using only recMoPrP(89–230) produced in *E. coli* to form amyloid fibrils, we inoculated the fibrils intracerebrally into Tg mice expressing MoPrP(Δ 23–88) (2). After more than 300 days, none of the mice had developed symptoms of CNS disease; therefore, we reported that the N-terminally truncated MoPrP(89–230) folded into amyloid fibrils was not infectious (3). Subsequently, we found that all of the Tg(MoPrP, Δ 23–88)9949 mice developed neurologic dysfunction between 380 and 660 days after inoculation. Western blotting of brain extracts showed protease-resistant PrP (4). Serial transmission of the Tg(MoPrP, Δ 23–88)9949 mouse brain extracts containing mammalian synthetic primions (MSP) to wild-type (wt) FVB and Tg(MoPrP)4053 mice gave incubation times of 150 and 90 days, respectively. Neuropathological findings suggest that a novel prion strain was created, one that is distinct from the RML strain. Our results provide compelling evidence for the propositions that prions are infectious proteins and that sporadic prion disease requires only the spontaneous conversion of PrP^C into PrP^{Sc}. While sporadic CJD has been shown to be the most common form of human prion disease (5), data on the frequency of sporadic scrapie in sheep and sporadic BSE in cattle are incomplete. However, the production of MSP from recMoPrP(89–230) argues that sporadic forms of all prion diseases only require that a host mammal produces PrP^C.

References

1. Tremblay, P., Ball, H. L., Kaneko, K., Groth, D., Hegde, R. S., Cohen, F. E., DeArmond, S. J., Prusiner, S. B., and Safar, J. G. (2004) Mutant PrP^{Sc} conformers induced by a synthetic peptide and several prion strains. *J. Virol.* 78, 2088-2099
2. Supattapone, S., Muramoto, T., Legname, G., Mehlhorn, I., Cohen, F. E., DeArmond, S. J., Prusiner, S. B., and Scott, M. R. (2001) Identification of two prion protein regions that modify scrapie incubation time. *J. Virol.* 75, 1408-1413
3. Baskakov, I. V., Legname, G., Baldwin, M. A., Prusiner, S. B., and Cohen, F. E. (2002) Pathway complexity of prion protein assembly into amyloid. *J. Biol. Chem.* 277, 21140-21148
4. Legname, G., Baskakov, I. V., Nguyen, H.-O. B., Riesner, D., Cohen, F. E., DeArmond, S. J., and Prusiner, S. B. (In preparation) Synthetic mammalian prions.
5. Masters, C. L., Harris, J. O., Gajdusek, D. C., Gibbs, C. J., Jr., Bernouilli, C., and Asher, D. M. (1978) Creutzfeldt-Jakob disease: patterns of worldwide occurrence and the significance of familial and sporadic clustering. *Ann. Neurol.* 5, 177-188