

獲得性プリオン病の診断法の開発

北海道大学大学院獣医学研究科比較病理学教室 准教授 小林 篤史



背景と目的

獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病の中でMMiKと名付けられたサブグループは孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病とは全く異なる病理学的・生化学的特徴を示します。われわれはこれまでに、その病理学的・生化学的特徴に基づくスクリーニングと、感染実験による感染特性評価という2段階の検査で獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKを同定できることを明らかにしてきました。しかし、従来の感染特性評価法はマウスへの脳内接種後に発病まで観察するというもので、数年にわたる長い潜伏期間が迅速な診断の大きな障壁となっていました。そこで、本研究では簡便な感染特性評価法を構築し、獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKの迅速な確定診断法を確立することを目指しました。

結 果

1. FDCアッセイの確立

プリオンは末梢組織に侵入すると、まずリンパ組織の濾胞樹状細胞（FDC）で増殖し、その後、神経組織へ侵入します。そこで本研究では、ヒトプリオン蛋白遺伝子導入マウスに獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKプリオンを腹腔内接種し、接種75日後に脾臓のFDCに蓄積する異常型プリオン蛋白をウェスタンブロットで解析しました。すると、PRNP遺伝子コドン129の正常多型がメチオニンホモ（129M/M）のマウスでは6匹中5匹（83%）で、バリニンホモ（129V/V）のマウスでは6匹中6匹（100%）で、脾臓FDCに異常型プリオン蛋白の蓄積がみられました。蓄積していた異常型プリオン蛋白は129M/Mマウスでintermediate type、129V/Vマウスでtype 2となり（図1）、脳内接種と同様の結果を得られることが分かりました。これらの結果から、腹腔内接種75日後のFDCアッセイにより獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKプリオンの感染特性を評価できることが示されました。

2. 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病との鑑別

次に、獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKと同じ129M/Mの遺伝子型をもつ孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病サブグループ（MM1, MM2C, MM2T）について、上記のFDCアッセイにより獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKと鑑別することが可能なかを検討しました。孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病MM1を接種したマウスではコドン129の遺伝子型にかかわらずtype 1の異常型プリオン蛋白の沈着がみられました。孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病MM2CやMM2Tを接種したマウスではいずれのコドン129遺伝子型のマウスでも異常型プリオン蛋白の沈着がみとめられませんでした。これらの結果から獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKと129M/Mの遺伝子型をもつ孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病をFDCアッセイにより鑑別できることが示されました。

3. FDCアッセイの迅速化

最後に、FDCアッセイによる獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKプリオンの感染特性評価をどれだけ迅速化できるかを検討しました。獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKプリオンを腹腔内接種し、接種28、14、7、3日後にFDCに蓄積する異常型プリオン蛋白をウェスタンブロットにより解析したところ、129V/Vマウスでは最短で接種14日後でもtype 2の異常型プリオン蛋白の蓄積がみとめられました（図1）。一方、129M/Mマウスではいずれの時点でも異常型プリオン蛋白が検出されませんでした。これらの結果は、獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKプリオンを脳内接種すると129V/Vマウスが129M/Mマウスよりも早くに発病し、129V/Vマウスでは接種材料に含まれるintermediate typeからtype 2に異常型プリオン蛋白の分子量がシフトするというこれまでの報告と一致していました。

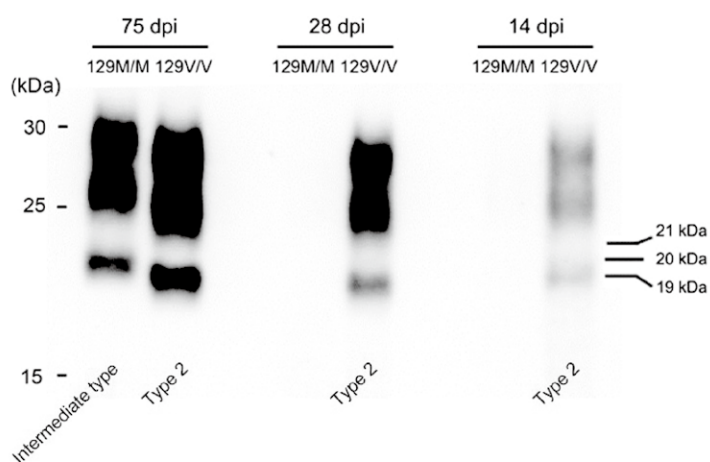


図1. 脾臓FDCの異常型プリオン蛋白
獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiK
プリオンの腹腔内接種75日後には、
129M/Mマウスにおいてintermediate
type、129V/Vマウスにおいてtype 2の異
常型プリオン蛋白の蓄積がみとめられま
した。接種14日後および28日後には、
129V/Vマウスのみtype 2異常型プリ
オン蛋白の蓄積がみとめられました。

今後の展望

本研究により獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病MMiKを正確かつ迅速に確定診断する方法が確立できました。今後は、欧米の研究拠点と協力してこれまで見逃されていた獲得性クロイツフェルト・ヤコブ病を広く検索したいと考えています。その中で、医源性プリオン感染の発生状況を正しく把握し、感染経路を特定してそのリスクを排除し、将来の医源性クロイツフェルト・ヤコブ病撲滅に結びつけたいと考えています。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり多大なご支援を賜りました公益財団法人難病医学研究財団の皆様により御礼申し上げます。