



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on methods for specific detection of abnormal isoform of prion protein and its application [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	鈴木, 章夫
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	乙第7149号
Issue Date	2021-12-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/83873
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Akio_Suzuki_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（感染症学）

氏名：鈴木 章 夫

審査委員	主査 教授	堀 内 基 広
	副査 教授	荏 和 宏 明
	副査 准教授	今 内 寛
	副査 准教授	小 林 篤 史

学位論文題名

Studies on methods for specific detection of abnormal isoform of prion protein
and its application

（異常型プリオンタンパク質の特異的検出法とその応用に関する研究）

プリオン病の病原体であるプリオンは、異常型プリオンタンパク質 (PrP^{Sc}) から構成される。 PrP^{Sc} は、宿主由来正常型プリオンタンパク質 (PrP^{C}) から構造転換を含む翻訳後修飾により産生される。 PrP^{Sc} の産生はプリオンの増殖とみなされることから、 PrP^{Sc} の特異的な検出は、プリオンの増殖機構およびプリオン病の神経病態機序の解析に重要である。さらに、 PrP^{Sc} の特異的な検出は、プリオン病の診断やサーベイランスにも重要である。そこで本研究では、 PrP^{Sc} 特異的染色に非常に有用であるモノクローナル抗体 (mAb) 132 による PrP^{Sc} 特異的検出のメカニズム、および、組換えシカ PrP (rCerPrP) を基質として用いた Real-Time Quaking-Induced Conversion (RT-QuIC) による PrP^{Sc} 検出の有用性について調べた。

第一章では、mAb 132 による PrP^{Sc} 特異的検出のメカニズムを解明するため、一価および二価の mAb 132 の組換えマウス PrP (rMoPrP) に対する反応性を、ELISA および表面プラズモン共鳴法 (SPR) により解析した。ELISA 法では、mAb 132 の一価での結合は二価型での結合に比べ有意に減弱したことから、二価での結合が mAb 132 に高い結合安定性を与えることが示唆された。SPR 法では、mAb 132 の一価結合の解離速度定数は二価結合より 260 倍大きかった。この結果も、mAb 132 の二価結合は一価結合より安定性が高い事を示唆している。さらに、2 つの PrP^{C} 分子が二価結合が可能な距離内に存在する場合、mAb 132 は PrP^{C} に結合した。これらの結果から、 PrP^{Sc} は凝集体を形成しているため、変性処理により mAb 132 の複数のエピトープが二価結合可能な距離内で PrP^{Sc} 凝集体上に露出されるため、mAb 132 が PrP^{Sc} に安定して結合する事が明らかとなった。

第二章では、様々な動物種の組換え PrP (rPrP) を用いて、組織乳剤濃度が高い場合でも低レベルの慢性消耗病 (CWD) および牛海綿状脳症 (BSE) プリオンを検出

可能な RT-QuIC の反応条件について検討した。供試した rPrP のうち、rCerPrP のみが、CWD および非定型 BSE プリオンに対する反応性が高濃度の非感染脳乳剤による影響を受けにくい、という特徴的な反応性を示した。この rCerPrP 特有の反応性は、N 末端領域のアミノ酸 25-93 を除去することにより消失した。また、マウス PrP のアミノ酸 23-149 をシカ PrP の対応する領域と置換することで、RT-QuIC 反応での rCerPrP 特有の反応性が部分的に回復した。一方、マウス PrP の C 末端領域アミノ酸 219-231 をシカ PrP の対応する領域と置換した場合でも、rCerPrP 特有の反応性が rMoPrP に部分的に付与された。加えて、シカ PrP の N 末端側アミノ酸 25-153 および C 末端側アミノ酸 223-233 を含むキメラ rPrP では、rCerPrP 特有の反応性に関して、N 末端および C 末端領域の相加効果が認められた。従って、N 末端および C 末端領域の両方が rCerPrP 特有の反応性に関与することが示唆された。これらの結果は、rCerPrP を用いた RT-QuIC が、CWD および非定型 BSE プリオンの検出に有用であることを示すものである。

第三章では、日本における CWD の浸淫状況を明らかにするために、RT-QuIC を用いて CWD のモニタリングを行った。北海道および本州で捕獲または狩猟された計 690 個体のニホンジカ、およびジャワマメジカの延髄門部サンプルを RT-QuIC により検査した。CWD 陽性例は認められなかったことから、CWD は日本で発生していない可能性が高いと考えられた。また、PrP 遺伝子の塩基配列の解析により、日本に生息するニホンジカは CWD 感受性の個体群により構成されることが示唆された。

以上、鈴木章夫氏は、mAb 132 による PrP^{Sc} 特異的染色のメカニズムを解明し、本染色法の信頼性と有用性を明らかにした。また、rCerPrP が、高濃度の組織乳剤存在下での RT-QuIC による BSE および CWD のプリオンの検出に有用であることを明らかにした。これらの成果は、プリオンの増殖機構およびプリオン病の神経病態機序の解析、並びにプリオン病の診断等に有用であり、当該研究分野の発展に大きく貢献すると思われる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 鈴木 章夫 氏が博士（感染症学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。