

プリオン病の謎、プリオンは本当に存在するのか？

九州大学大学院医学研究院脳研病理

堂浦 克美

はじめに

クロイツフェルト・ヤコブ病に代表されるプリオン病は、発症すると高度の痴呆をきたし数カ月以内に無動性無言状態となり1—2年で死の転帰をとる神経難病である。患者の脳やリンパ組織は感染性を有し、病気の本体は他の感染症と異なり蛋白質性因子（プリオン）とされている。稀少な神経難病（年間100万人に約1人の発症率）であるが、不幸にも我国ではヒト乾燥硬膜移植を受けた患者にプリオン病が多発している。一方、狂牛病（BSE）の発生は英国より全世界に拡大しており、我国も昨年よりBSE汚染国となり変異型クロイツフェルト・ヤコブ病感染勃発の脅威に曝されている。このような状況にありプリオン病の予防・治療法の確立が至急に求められ、研究が加速している。しかし、いまだに病原因子プリオンの存在を含めプリオン病の病態には謎が多く存在している。

異常型プリオン蛋白

プリオン病罹患脳から感染性と挙動をともにする異常型プリオン蛋白が Prusiner 博士らにより分離されてから20年が経とうとしている。今日までに感染因子に特異的な核酸は証明されておらず、異常型プリオン蛋白が感染因子の本体であるとするプリオン仮説は有力であるものの、100%実証されているわけではない。異常型プリオン蛋白と同様な生化学的性質を持つプリオン蛋白が試験管内で造り出されてはいるが、感染性のある異常型プリオン蛋白を生み出すことには成功していない。

表1. 正常型プリオン蛋白と異常型プリオン蛋白

	正常型プリオン蛋白	異常型プリオン蛋白
正常脳/リンパ組織	+	-
罹患脳/リンパ組織	+	+
一次構造・翻訳後修飾	共通	共通
培養細胞内局在	細胞膜表面	ライソゾーム
PIPLC感受性	+	-
産生時間(t1/2)	<1時間	15時間
半減期	3-6時間	>24時間
蛋白質分解酵素抵抗性	-	+
可溶性	+	-
アミロイド	-	+
高次構造	α -helix 42% β -sheet 3%	α -helix 30% β -sheet 43%

異常型プリオン蛋白が病原因子（プリオン）の本体であるかどうかは別として、この異常型プリオン蛋白が病態形成に必須の因子であることは確かである。プリオン病で特異的に認められる異常型プリオン蛋白は宿主の正常型プリオン蛋白の高次構造変換より生じると考えられている。異常型プリオン蛋白は正常型プリオン蛋白とアミノ酸配列や糖鎖修飾などの蛋白質修飾に違いはなく、生化学的には蛋白分解酵素処理に抵抗性で、界面活性剤に対し不溶性であることより正常型プリオン蛋白とは区別される。この生化学的性質はプリオン蛋白の高次構造の違いに基づいていて、異常型プリオン蛋白ではベータシート構造が増加している。

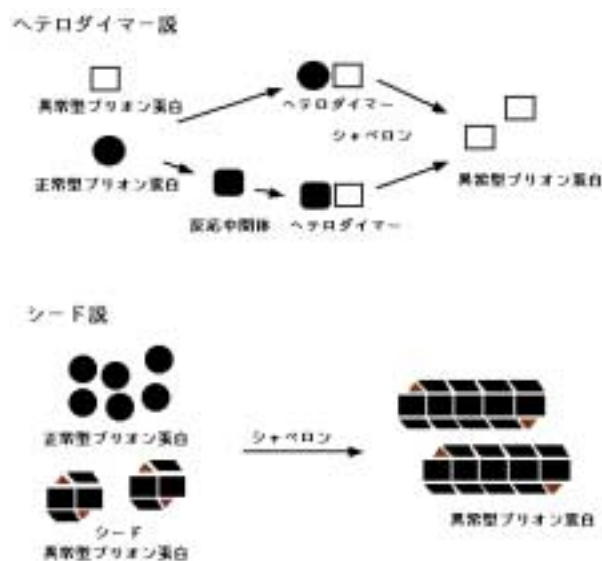
持続感染細胞を用いた研究では、細胞膜上に発現している正常型プリオン蛋白はエンドサイトソームにより飲み込み小胞内に取り込まれ、一部はライソゾームに移行して分解されるが、一部は再び細胞膜に運ばれ膜上に戻る。ラフトと呼ばれる細胞膜上あるいは細胞膜上からライソゾームに至る間に正常型プリオン蛋白は異常型プリオン蛋白に高次構造変換される。

プリオンの複製・増殖機序

プリオンの複製・増殖はすなわち正常型プリオン蛋白から異常型プリオン蛋白への高次構造の変換であるとされている。この変換機序に関しては、ヘテロダイマー説とシード説が提唱されている。ヘテロダイマー説では、異常型プリオン蛋白が鋳型を提供し正常型プリオン蛋白の構造変化を引き起こすか、あるいは存在頻度が低い反応中間体に作用するというもので、いずれにしても異常型プリオン蛋白のモノマーが、正常型あるいは反応中間体モノマーとヘテロダイマーを形成し、異常型モノマーが変換への触媒的役割を果たすというものである。一方、シード説では、異常型プリオン蛋白は整然とした立体構造を持つポリマーであり、これが種（シード）として働き正常型モノマーを重合してゆき、より大きなポリマーである異常型プリオン蛋白を形成するというものである。すなわち、異常型プリオン蛋白は正常型モノマーより成るポリマーであり、変換の過程は「重合」であるという仮説である。

図1 ヘテロダイマー説とシード説

ところで、宿主蛋白が正常な高次構造を失いβシート構造に富む異常な高次構造を取り組織内あるいは細胞内に沈着する疾患をコンフォメーション病と総称することがある。代表的疾患は、アルツハイマー病、トリプレットリピート病、プリオン病などであるが、プリオン病と他の疾患で決定的に異なる点はプリオン病では沈着する異常蛋白が感染性を持つ点である。コンフォメーション病では異



常蛋白の生成機序としてシード説が共通していると考えられているが、プリオン病の異常型プリオン蛋白の生成はシード説だけでは説明できない。感染性を説明できるような別の何らかの要因が存在するものと考えられる。

プリオン仮説の問題点

1982 年にはじめてプリオン仮説を提唱した Prusiner 博士は、蛋白質性感染因子プリオンに核酸が内在する可能性について含みを持たせていた。しかし、1990 年代に入り仮説を支持する成果が次々と報告されるようになり、今日ではプリオンは「核酸を持たない異常型プリオン蛋白」とであると言明している。しかし、プリオン仮説に異論を唱える研究者は少なからず存在する。プリオン仮説の問題点を表に要約した。いずれにしろ、プリオン仮説の実証には、試験管中で感染性を持つ異常型プリオン蛋白を造り出す必要があるし、感染因子がウイルスであるのであれば、そのウイルスを単離・同定する必要がある。

表 2. プリオン仮説への反論

ノックアウトマウスが発症しない。

プリオン蛋白は病態形成必須因子であり、感染因子の補助因子や受容体。

種の壁現象をプリオン蛋白の一次構造が規定。

プリオン蛋白は感染因子の補助因子や受容体。

遺伝性プリオン病の存在。

変異型プリオン蛋白では感染感受性が高まる。

変異型プリオン蛋白発現トランスジェニックマウス（多量発現）が自然発症。

疾患は同トランスジェニックマウス（少量発現）に伝播。

罹患マウス脳で異常型プリオン蛋白が証明されていない。

罹患脳の乳剤を野生型マウスに接種しても発症しない。

感染因子特異的な核酸が証明されていない。

高度に精製された感染性画分には有為な量と質の核酸が混在。

感染因子 1 ヶあたりの異常型プリオン蛋白分子は 10^5 以上も存在。

微量な特異的核酸を単離する技術上の問題。

正常型プリオン蛋白から異常型への変換が in vitro で証明されている。

変換機構は他のアミロイドの産生にも共通、しかし他のアミロイドに感染性はない。変換により新たに生じた異常型プリオン蛋白に感染性が証明されていない。

感染因子株により異常型プリオン蛋白の高次構造が異なる。

感染因子がプリオン蛋白の折れ畳み方を規定している。

感染因子の物理学的・化学的性質は、ウイルスとは異なる。

感染因子は固い殻（異常型プリオン蛋白？）に包まれた小型のウイルス。

神経変性の機序

正常型プリオン蛋白の生理的な機能については充分には解明されていないが、神経細胞の前シナプス終末において銅イオンのシナプスへの放出と再取込みに関与していると推定されている。プリオン病における神経変性については、この正常型プリオン蛋白の機能不全が原因であるという考えがある。プリオン蛋白欠損マウスにおいて記憶や学習の異常、活動性日内周期異常や睡眠周期異常あるいは小脳プルキンエ細胞や脊髄の変性などが報告されたためである。しかしながら、これらの症状は必ずしも正常型プリオン蛋白の欠損に起因しているとは限らず、プリオン蛋白遺伝子近傍に存在するプリオン蛋白類似遺伝子 *doppel* の発現亢進が原因と考えられるものもある。この *doppel* 遺伝子産物とプリオン病との直接の関連は今のところ指摘されていない。さらに、プリオン蛋白欠損マウスではプリオン病罹患マウスで見られるような灰白質あるいは神経細胞の海綿状変性を伴う神経変性は観察されていない。

一方、異常型プリオン蛋白が原因であるとする考え方については、異常型プリオン蛋白に類似した生化学的性質を持つプリオン蛋白ペプチド断片（106番から126番アミノ酸のペプチドがよく使われる）を培養上清中に加えた神経細胞培養系での研究から、神経変性を起こす機序としていくつかの仮説（フリーラジカル仮説、K チャンネル仮説、イオンチャンネル仮説など）が提唱されているが、いずれも他のコンフォメーション病の神経変性機序としても共通して推測されているものであり *in vivo* では実証されていない。

治療薬開発の現状

異常型プリオン蛋白の生成阻害を標的とした医薬分子の開発がプリオン病治療薬開発の中心となっているが、いまだに異常型プリオン蛋白の立体構造情報が報告されていないため立体構造に基づいた医薬分子の設計が困難である。また、これまでに報告されてきた化学物質は大半が医薬品としての実用性の低いものであり、臨床で実用されるものが登場するにはまだまだ時間を要する。ところで動物実験で有効性が報告されているものについては、いずれも末梢（経口、腹腔内、静脈内、皮下）からの感染において感染以前あるいは感染早期（すなわち病原因子が中枢神経系に到達する以前）に投与するのであれば発症遅延効果があるのであって、中枢神経系が病原因子で侵され症状が出現した以降の投与では効果がない。この原因としてプリオン病の標的臓器である中枢神経系への薬剤の移行が不十分である可能性がある。

これまで *in vitro* あるいは *in vivo* で有効性が確認されているものを大別するとプリオン蛋白に直接作用するものとそうでないものに別れる。このうち直接作用するものには、他のコンフォメーション病やアミロイドーシスで有効なアミロイド結合薬が含まれる。アミロイドにはその構成蛋白質の一次構造に無関係に共通した薬剤認識部位（Congo red、IDOX、thioflavin などの各認識部位）が存在することが指摘されている。したがって、アミロイドーシスやコンフォメーション病、特にアルツハイマー病に有効なアミロイド作用薬がプリオン病の治療にも応用できる可能性がある。一方、治療薬が奏効し患者の脳障害後遺症を最小限に抑え社会復帰をはかるためには、現在よりも迅速で信頼のおける早期診断法が必要であるが、異常プリオン

蛋白に直接作用する薬剤は診断用プローブとして早期の異常プリオン蛋白沈着の核医学的検出に応用できる可能性がある。

表3. 有効性が報告されている化合物

プリオン蛋白に直接作用する化合物

アミロイド染色剤:	コンゴーレッド
コンゴーレッド誘導体:	クリサミン G
硫酸多糖体:	カラギーナン, ペントサン硫酸
アントラサイクリン:	IDOX, FCE29084A
環状テトラピロール:	ボルフィリン, フタロシアニン
分枝ポリアミン:	ポリアミドアミン, デンドリマー

プリオン蛋白に直接作用しない化合物

ポリエン抗生剤:	アムホテリシン B, MS-8209
リソゾーム移行性薬剤:	キナクリン, システイン・プロテアーゼ阻害薬
フェノチアジン:	クロールプロマジン

おわりに

プリオン産生阻害薬、プリオン病治療薬・予防薬の開発は、ハイリスクの人々や発症患者にとって福音となることはもちろんのこと、争点となっている病原因子の本体の解明や病態解明にも新たな知見を与えるものと期待される。プリオン病の病態機序の解明については、脳アミロイドーシス症として共通点が多いアルツハイマー病の研究がモデルとなって、脳内に沈着したプリオン蛋白アミロイドと病態形成の関係が明らかにされる可能性もある。また、正常型プリオン蛋白の生理的機能の解明からもプリオン病の病因・病態に関わる新たな手がかりが得られるものと思われる。

参考文献

- Prusiner S.B. (1998) Prions. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:13363-13383
- Chesebro B. (1998) BSE and prions: Uncertainties about the agent. Science 281:2055-2058
- 2744-2748 (1998) プリオンとプリオン病. 共立出版, 東京
- 堂浦克美 (1999) プリオン病研究とプリオン仮説の行方. 実験医学 17:503-509
- 堂浦克美 (2002) ヒトのプリオン病とその治療薬剤開発の現状. ファルマシア 38:635-639