

女性研究者支援 研究助成 2018 – 感染症領域 –
研究成果報告書（公表用） <概要>

所 属	宮崎大学医学部医学科感染症学講座微生物学分野
氏 名	高月 英恵
研 究 テーマ	ヒトプリオン病に対するコンビネーションセラピーのための構造ベース創薬

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。（図表、写真などの添付を含む）

【目的】プリオン病は正常型プリオンタンパク質（PrP^C）が構造変換し、異常型プリオンタンパク質（PrP^{Sc}）となり、中枢神経系に蓄積することで認知症や様々な運動障害を呈する感染性の致死性神経変性疾患である。プリオン病はウイルスと同様に株が存在することが特異な点であり、発症年齢、症状・徴候および臨床経過が異なる。プリオン病の予防・治療法はなく、治療薬の開発が急がれている。本研究ではプリオンタンパク質に結合する化合物を表面プラズモン共鳴イメージングおよびドッキング計算によって見出し、我々が開発した高感度検出法を用いることで、これまでのスクリーニングの指標とされてきたプロテアーゼ耐性 PrP（PrP-res）だけでなく、プリオン活性についても評価することで、有効な治療薬の探索を行った。

【研究方法・結果】

Protein misfolding cyclic amplification (PMCA 法)による化合物のプリオン増幅抑制効果の検証：PMCA 法は極微量の PrP^{Sc} を試験管内で爆発的に複製させる方法である。この方法は脳内で起こる PrP^{Sc} の増幅を模倣していると考えられている。58 種類の化合物を治療薬候補化合物として PMCA 反応に添加し、抑制効果を検証した。結果、遺伝性ヒトプリオン病馴化株である Fukuoka-1 株の増幅を抑える 3 つの化合物を見出した。各化合物の PMCA 抑制レベルとドッキング計算によって示された結合エネルギーには相関がなかった。抑制効果が見込まれる 2 つの薬剤を併用し PMCA 抑制効果を検証したところ、相加効果は得られたが、相乗効果は得られなかった。また、スクレイプー馴化株である 22L 株も同様に実験したところ、興味深いことに 10 種類の化合物は Fukuoka-1 株と異なる結果を示した。

ペントサンポリサルフェート (PPS) によるプリオン潜伏感染誘導：これまでに臨床試験が行われた PPS によるプリオン抑制効果はプリオン株特異的である可能性が示唆された。高感度プリオン検出法である RT-QuIC 法を用いて PPS 存在下で培養されたプリオン感染細胞のプリオン活性を測定した。PPS は 22L 株および Fukuoka-1 株感染細胞の PrP-res レベルを WB 検出限界以下まで減少させた。しかし、Fukuoka-1 株においては PrP-res 消失後もプリオン活性は低ながらも残存し、そして PPS を培地から除くとプリオン活性および PrP-res は元のレベルまで回復した。つまり PPS によって Fukuoka-1 株感染細胞はプリオン潜伏感染が誘導されるということが明らかとなった。

【研究成果】本研究の成果は 2 つある。1 つはプリオン株ごとに阻害剤の抑制効果が異なることを明確に示したことである。もう一つはプリオン潜伏感染という現象を初めて発見したことである。PPS によって細胞内のプリオン活性が 1000-10000 分の 1 に減少しているにもかかわらず、細胞内分解機構から逃れ活性を維持し続けている。このメカニズムを解明することで、予防薬の開発のための知見が得られるだけでなく、発症要因が不明であった孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病の発症機構の解明につながる可能性が期待される。

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 国内外を問わない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2019年10月3-4日	Asian Pacific Prion Symposium APPS2019. <u>Hanae Takatsuki</u> , Tsuyoshi Mori, Morikazu Imamura and Ryuichiro Atarashi. Pentosan polysulfate induces latent prion infection in Fukuoka-1 strain-infected cells
2		
3		
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2021年2月	Journal of Biological Chemistry
2		
3		
4		