

## 研究題目 プリオン蛋白質の構造変換メカニズムの解明

### 研究組織

研究代表者：宮田博規（産業医科大学 動物研究センター）

共同研究者：坂口末廣（徳島大学先端酵素学研究所）

#### 【1】研究の概要

##### [1-1]本研究の目的・概要

プリオン病は、神経細胞に発現する正常プリオン蛋白質が蛋白質分解酵素抵抗性の異常プリオン蛋白質に構造変換する事で発症する神経変性疾患である。しかし、その構造変換の機構は解明されていない。本研究では、正常プリオン蛋白質に様々な変異を導入したトランスジェニックマウスを作製し、プリオン蛋白質の構造変換のメカニズムを解明する。

##### [1-2]研究の方法・経過

正常プリオンタンパク質の N 末の polybasic region の 3 箇所のリジンをアラニンに置換した Tg(PrP3K3A)/Prnp<sup>0/0</sup> マウス、PrP3K3A に銅イオン結合領域の octapeptide repeat (OR) region を一緒に欠損させた Tg(PrP3K3AΔOR)/Prnp<sup>0/0</sup> マウス、OR 領域のヒスチジンをアラニンに置換し、銅イオンが結合しない Tg(PrPORmut)/Prnp<sup>0/0</sup> マウス、及び OR 領域より C 末のアミノ酸 91-106 を欠損させた Tg(PrPORmut)/Prnp<sup>0/0</sup> マウスを作成し、プリオンを脳内感染させ、プリオン病を発症するのか、異常プリオンタンパク質は産生されるのか解析する。また、遺伝性プリオン病の変異プリオン蛋白質

(101 番目のプロリンがロイシンに置換) を発現する Tg(PrP-P101L)/Prnp<sup>0/0</sup> マウスを作成し、遺伝性プリオン病の病態メカニズムを解析する。

#### 【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

Tg(PrP3K3A)/Prnp<sup>0/0</sup> マウスと Tg(PrP3K3AΔOR)/Prnp<sup>0/0</sup> マウスにプリオンを脳内感染させた結果、これらのマウスは同様に著明に Wild type マウスに比較し延長した潜伏期後にプリオン病を発症した。また、異常プリオンタンパク質は脳内に蓄積していた。これらの結果、正常プリオン蛋白質の polybasic region のリジンはプリオンタンパク質の変換には必須ではないが、重要な役割を担っており、その結果これらのマウスではプリオン病の発症が著明に延長することを示した。また、プリオンタンパク質の変換には、OR 領域は polybasic region に影響しないことが明らかになった。

Tg(PrPORmut)/Prnp<sup>0/0</sup> マウス 2 line 及び Tg(PrPORΔ91-106)/Prnp<sup>0/0</sup> マウス 5 line の作成に成功し、現在 Tg(PrPORmut)/Prnp<sup>0/0</sup> マウスは、プリオンを感染させ、経過を観察している。一

方、Tg(PrP<sup>OR</sup>Δ91-106)/Prnp<sup>0/0</sup>マウスは、germlineに乗っているかどうかを検査し、脳内の発現量の定量のための繁殖をおこなっている。

また、Tg(PrP-P101L)/Prnp<sup>0/0</sup>マウス4 lineの作成にも成功し、これらのマウスがPrP-P101L蛋白の脳内発現量に応じた潜伏期間をもって神経症状を呈することを確認した。この結果は、遺伝性プリオン病のモデルマウスの作成に成功したことを示している。現在、これらのマウスの病態を病理学的及び生化学的に解析している。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本研究により、正常プリオン蛋白質のpolybasic regionのリジンがプリオンタンパク質の変換には必須ではないが、重要な役割を担っていることを明らかにし、プリオンタンパク質の変換メカニズムの解明に貢献できた。また、本研究により、Tg(PrP<sup>OR</sup>mut)/Prnp<sup>0/0</sup>マウス及びTg(PrP<sup>OR</sup>Δ91-106)/Prnp<sup>0/0</sup>マウスの作成にも成功していることから、プリオンタンパク質の変換における同イオン結合及びアミノ酸91-106の役割を明らかにすることができる。また、本研究により、遺伝性プリオン病のモデルマウスを作成することに成功しているので、遺伝性プリオン病の病態解明にも貢献できる。

### 【3】主な発表論文等

[3-1]

1) Das NR, Miyata H, Hara H, Chida J,

Uchiyama K, Masujin K, Watanabe H, Kondoh G, Sakaguchi S. The N-Terminal Polybasic Region of Prion Protein Is Crucial in Prion Pathogenesis Independently of the Octapeptide Repeat Region. *Molecular Neurobiology* 57(2): 1203-1216, 2020.

2) なし

[3-2]学会発表  
なし

[3-3]成果資料等  
なし

【4】今後の課題等  
特になし