

研究題目 ウイルス感染をトリガーとしたプリオン病発症機構の解明

研究組織

研究代表者：原 英之（大阪大学感染症総合教育研究拠点）

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

病原体「プリオン」が感染すると、哺乳類では、宿主タンパク質である正常型プリオンタンパク質が、凝集性の異常型プリオンタンパク質へと構造変換し、プリオン病を引き起こすことが知られている。一方、酵母などの真菌類では、プリオン感染により正常型プリオンタンパク質が異常型プリオンタンパク質へと構造変換することは、抗真菌剤抵抗性獲得など、生存に有利な機能を獲得することが報告されている。研究代表者は、プリオン感染細胞が、プリオン非感染細胞と比べてインフルエンザウイルス（以下、IAV）感染による細胞死を起こしにくいことを発見した。この発見は、哺乳類のプリオンが細胞機能に有利な役割を果たすことを意味している。そこで本研究では、プリオン感染細胞における IAV 感染抵抗性のメカニズムを解明する。

[1-2]研究の方法・経過

プリオンタンパク質を過剰発現した Neuro2a 細胞（以下、C24 細胞）と 22L 株のプリオンを持続感染している C24 細胞（以下、L1-3 細胞）に WSN 株の IAV を感染した。IAV 感染による細胞死は、細胞数の計測と培地中に放出された乳酸脱水素酵素（LDH）活性により細胞の傷害度を評価した。また、細胞死の種類については、活性型 Caspase-3、LC3、リン酸化 MLKL およびリン酸化 RIPK3 量の経時的变化をウェスタン・ブロット法（以下、WB 法）により評価した。さらに、細胞傷害を起こす物質として活性酸素種（ROS）と活性酸素を除去する酵素としてスーパー・オキシサイド・ディスムターゼ（SOD）

を定量した。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

WSN 株の IAV を感染した L1-3 細胞は、C24 細胞と比較して IAV 感染 48, 72 時間後において有意に多くの細胞が生存していた。また、その時の LDH の値も有意に低かった。

IAV が感染した L1-3 細胞では、核画分を用いた WB 法と免疫蛍光分析により、NF- κ B の核内移行が抑制され、ミトコンドリアに局在する SOD2 の発現も抑制していた。さらに、Mito-TEMPO（ミトコンドリア ROS をターゲットとした抗酸化物質）を用いた解析から、ROS の中でもミトコンドリアの ROS が上昇していることが明らかになった。L1-3 細胞の培養上清には、IAV 感染 24 時間後に IL-1 β の放出量が上昇していたことから、IAV 感染により、L1-3 細胞で発現上昇したミトコンドリアの ROS は、NLRP3 インフラマソームを活性化し、IL-1 β を放出していると考えられた。

さらに、IAV が感染した L1-3 細胞では、C24 細胞のようにリン酸化 MLKL およびリン酸化 RIPK3 の発現上昇が WB 法により確認できなかったことから、ネクロトーシスが惹起しないようになっていた。

プリオンタンパク質は、GPI アンカーを有する膜タンパク質であることから、免疫蛍光分析により C24 細胞では主に細胞表面に存在が認められたが、L1-3 細胞では、プリオンタンパク質の一部は細胞質に蓄積していることが確認された。さらに、核内移行シグナル予測ツール cNLS Mapper によると、プリオンタンパク質の N 末端の 23-51 アミノ酸残基は、核内移行シグ

ナルとして働くと予測された。そこで、EGFP と PrP23-51 の融合タンパク質を作製し、C24 細胞に発現したところ、免疫蛍光分析により GFP の核への局在と核画分を用いた WB 法により NF- κ B の核内へ移行が阻害されることを確認した。

これらの結果から、プリオン感染細胞は細胞質にプリオンタンパク質を蓄積し、プリオンタンパク質の核内移行シグナルを介して NF- κ B の核内移行が阻害され、最終的に NLRP3 インフラマソームの活性化とネクロトーシスを抑制することで、IAV 感染から細胞を保護することが示唆された。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

IAV 感染に対するプリオンの正確な細胞保護機構を解明することは、環境ストレスに対する他のプリオン様タンパク質凝集体が有する同様の性質を理解するのに役立つと考えられる。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

Hideyuki Hara, Junji Chida, Batzaya Batchuluun, Etsuhisa Takahashi, Hiroshi Kido, Suehiro Sakaguchi. Protective role of cytosolic prion protein against virus infection in prion-infected cells. *J. Virol.* **98**:e0126224 (2024).

[3-2] 学会発表

なし

[3-3] 成果資料等

なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD)、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) など、ウイルス感染とタンパク質凝集体を形成する神経変性疾患には関連が示唆されている。例えば、単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) は AD、IAV および日本脳炎ウイルスは PD、エンテロウイルスおよびヒトヘルペスウイルスは ALS に病因学的に関連していることが示唆されている。本研究において、プリオンには IAV 感染に対する保護的な役割があることが明らかになり、プリオンだ

けでなく、神経変性疾患における他のプリオン様タンパク質凝集体にも、ウイルス感染を含むさまざまな環境ストレスに対する細胞保護機構が存在する可能性があると考えられる。