〔生化学　第79巻　第9号，pp. 843–852，2007〕

総　説

プリオンタンパク質の正常機能とプリオン病における役割

坂　口　末　廣

プリオンタンパク質（PrP）は，その正常構造が変化し異常構造をとると「プリオン」となり，プリオン病を引き起こす．プリオン病では，正常PrPが異常に変換することにより正常PrPは減少し，正常機能が障害されていると考えられている．実際，プリオン病の病態と非常に類似した異常がPrP欠損マウスに部分的に認められることが報告されている．一方，異常PrPは神経毒性に作用すると考えられている．また興味深いことに，我々は，正常PrPが神経保護機能を有し虚血または神経毒性タンパク質による神経細胞死を抑制することを見出した．つまり，プリオン病では正常PrPが減少し異常PrPが増加することにより，神経保護機能は減弱し神経毒性は増強すると考えられる．従って，プリオン病では，このように増強した神経毒性を介して，神経細胞死が起きている可能性が考えられる．

1. はじめに

プリオンタンパク質（PrP）は宿主遺伝子にコードされた膜タンパク質である．「プリオン仮説」によると，PrPはそのタンパク質高次構造に変化を起こし特異な構造をとると感染性を獲得し，いわゆる「プリオン」となり，プリオン病を引き起こすと考えられている[1]．PrPがプリオンになると宿主に感染し，構造変化を未だ起こしていない宿主PrPの構造を変化させ，新たなプリオンを産生する[1]．このようにしてPrPは順次構造変化を来しプリオンの複製が行われる．タンパク質のみが，それも宿主タンパク質が構造変化を来したのみで感染性タンパク質に変換するというメカニズムは，これまでに確立された感染メカニズムと全く異なる．細菌やウイルスといったこれまでの病原微生物は，複製のための遺伝情報として核酸を保有している．しかしプリオンでは，複製のための情報がそのタンパク質構造に内在されている．最近，アミロイド症でも，プリオン病と同様にタンパク質高次構造に異常を来した宿主タンパク質またはペプチドが，プリオンと同様に，感染性タンパク質に変化する可能性が報告されつつある[2]．従って，プリオン病はこのような感染性タンパク質による疾患のプロトタイプとして，これからは新たに位置づけられていくのかもしれない．

本稿では，PrPのタンパク質構造や正常機能について紹介し，プリオンとの関係やプリオン病の病態における役割について，これまでの我々の研究成果や最近の知見を基に考察したいと考えている．

徳島大学疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門（〒770–8503 徳島市蔵本町3丁目18–15）
Physiological functions of prion protein and its roles in the pathogenesis of prion diseases
Suehiro Sakaguchi（Division of Molecular Neurobiology, The Institute for Enzyme Research, The University of Tokushima, Kuramoto-cho 3–18–15, Tokushima 770–8503, Japan）

2. プリオンタンパク質

1) 遺伝子構造及び発現

プリオンタンパク質（PrP）は宿主遺伝子にコードされた糖タンパク質である．ヒト及びマウスPrP遺伝子はそれぞれ第20番染色体と第2番染色体上に存在する．ヒトPrP遺伝子は二つのエキソンからなり，マウスPrP遺伝子は三つのエキソンからなる．タンパク質翻訳領域は単一のエキソン内に存在し，ヒトでは2番目，マウスでは3番目のエキソン内にある[3]．PrPのアミノ酸配列は動物種を超えて非常によく保存されている[4]．遺伝子発現は，脳，心，肺，肝，脾，膵，腎など多くの組織または臓器に認められるが，特に脳において最も高い[5]．脳内では，神経細胞に高く発現しているが，アストロサイトやミクログリアなどのグリア細胞にも発現している[6,7]．

2) 構造アイソフォーム

PrPには，アミノ酸組成は全く同じなのに，タンパク質高次構造が異なる二つのアイソフォームが知られている．一つは我々の様々な正常組織に発現する正常プリオンタンパク質（cellular PrP：PrP^{C}）であり，もう一つはプリオン病に特異的に検出される異常プリオンタンパク質（scrapie PrP：PrP^{Sc}）である[8]．

マウス PrP^{C} は，254個のアミノ酸からなる前駆体タンパク質として翻訳される（**図1**）．N末端23個のアミノ酸はシグナルペプチドとして機能し，生合成の過程で除去される（図1）[9]．またC末端23個のアミノ酸は，グリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）アンカーシグナルとして機能し，小胞体でのGPIアンカー付着時に切断される（図1）．さらに，179番目と214番目のシステイン間でS-S結合が形成され，181番目と197番目の二つのアスパラギンに糖鎖が付加される（図1）．このような生合成の過程を経た後，PrP^{C} は分子量33–37kDaのGPIアンカー糖タンパク質として細胞膜上（主にラフト上）に発現する．

細胞膜上に発現した PrP^{C} は，エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれ，リソソームのタンパク質分解酵素により分解される．一部は，分解されることなくリサイクルされ，再び細胞膜に搬送される．PrP^{C} の半減期は約5時間程度である．

PrP^{Sc} は PrP^{C} が構造変化を起こしたものである．円2色性法（circular dichroism；CD）での解析の結果，PrP^{Sc} は PrP^{C} と比べてβシート構造の含有率が非常に高いことが明らかとなった．PrP^{C} は42%のαヘリックスと3%のβシートを有し，PrP^{Sc} は30%のαヘリックスと43%のβシートを有する（**表1**）[10]．また，両者の生化学的性質も著明に異なる．PrP^{C} は界面活性剤の存在下で高い可溶性を示し，タンパク質分解酵素（プロテイナーゼK）にて容易に分解される（表1）[5]．しかし，PrP^{Sc} は難溶性で凝集体を形成しやすく，プロテイナーゼKでも消化されにくい（表1）[5]．

nuclear magnetic resonance（NMR）による構造解析の結果，PrP^{C} はN末端とC末端の二つの領域（ドメイン）から構成されることが明らかとなった．N末端領域（アミノ

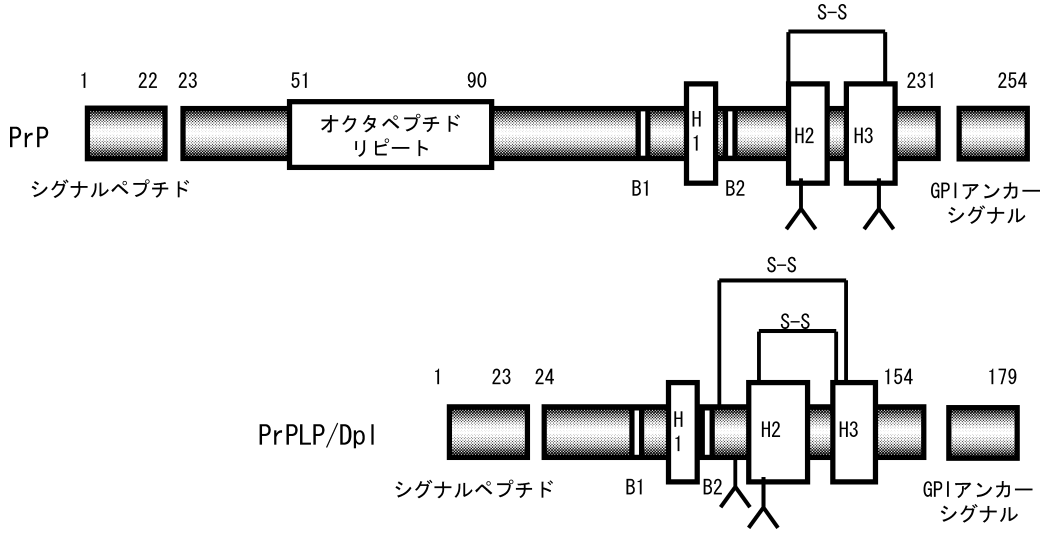

図1 PrPと PrPLP/Dplのタンパク質構造

PrPは，254個のアミノ酸からなる前駆体タンパク質として翻訳される．N末端22個のアミノ酸はシグナルペプチドとして働き，またC末端23個のアミノ酸はGPIアンカーシグナルとして機能する．B1（アミノ酸128～131）とB2（アミノ酸161～164）はβシート構造領域を，H1（アミノ酸144～154），H2（アミノ酸179～193）とH3（アミノ酸200～217）はαヘリックス構造領域を示している．PrPLP/Dplは，179個のアミノ酸からなる前駆体タンパク質として翻訳される．N末端23個のアミノ酸はシグナルペプチドとして働き，またC末端25個のアミノ酸はGPIアンカーシグナルとして機能する．B1（アミノ酸59～61）とB2（アミノ酸88～90）はβシート構造領域を，H1（アミノ酸73～82），H2（アミノ酸101～125）とH3（アミノ酸129～145）はαヘリックス構造領域を示している．S-Sはジスルフィド結合を，Ⲯは*N*型糖鎖結合を示す．数字はアミノ酸番号を示す．

表1 PrPアイソフォーム

プリオンタンパク質（PrP）	タンパク質二次構造		プロテイナーゼK	溶解性
	αヘリックス	βシート		
PrP^{C}	42%	3%	感受性	可溶性
PrP^{Sc}	30%	43%	抵抗性	難溶性

酸23〜120）は無構造なランダムペプチドであり，C末端領域（アミノ酸121〜231）は三つのαヘリックスと二つの短いβシートを有する球状構造である（図1）[11]．N末端領域には，グリシンに富む8アミノ酸の繰り返し配列（octapeptide repeat：PHGGGWGQ）が存在する（図1）．この領域は，ヒスチジン（H）残基にて銅イオンと結合し，酸化ストレスの緩和に関与しているという報告があるが[12]，未だその機能に関しては十分に解明されていない．またPrP^Cは，細胞膜に存在するメタロプロテアーゼのADAM（a disintegrin and metalloprotease）10やTACE（tumor necrosis factor α-converting enzyme; ADAM17）により，中央部分（111番目と112番目のアミノ酸の間）で切断されることが報告されているが[13]，その生物学的意義も不明である．PrP^{Sc}の構造については，PrP^{Sc}が凝集体を形成しやすいために，未だ完全な解析が行われていない．

3） プリオンタンパク質類似分子：PrPLP/Dpl

我々とカナダのグループはそれぞれ独自に，PrP遺伝子の約16kb下流に，PrPと非常に類似した分子（PrPLP/Dpl）をコードする遺伝子を見出した[14,15]．PrPLP/Dplは，PrPと同様に，GPIアンカータンパク質である（図1）．N末端にはシグナルペプチドがあり，C末端にはGPIアンカーシグナルが存在する（図1）．またPrPと同様に，PrPLP/Dplは三つのαヘリックスと二つの短いβシートからなる球状タンパク質である（図1）[16]．さらにPrPと同様に，2番目と3番目のαヘリックスがS-S結合にて連結し，2箇所に*N*結合型の糖鎖が存在する（図1）．しかしPrPLP/Dplには，PrPのN末端領域に相当する部分がない．そのためPrPLP/Dplは，PrPに特異的に存在するoctapeptide repeat領域に相当する配列を有しない（図1）．

PrPLP/Dplは，正常マウスの精巣，心臓，骨格筋，および脾臓に発現する[17]．特に，精巣で最も高い発現を示し，精子細胞に発現している[18,19]．Behrensらは，PrPLP/Dpl遺伝子欠損マウスを作製し解析した結果，雄のマウスにおける精子細胞から精子への分化が部分的に阻害され，精子の数が減少していることを報告した[18]．また，産生された精子の頭部は形態異常を起こしていた[18]．これらの精子は機能的にも異常を示し，卵子の透明帯を通過できなかった[18]．一方，雌のPrPLP/Dpl遺伝子欠損マウスは正常に妊娠した[18]．つまりこれらの結果は，PrPLP/Dplが精子の形成に重要であることを示している．

PrPLP/Dplは，PrPと異なり大人のマウスの脳では発現しない[17]．しかし興味深いことに，脳血管内皮細胞に特異的に，しかも生後1週をピークに一過性の発現が認められる[17]．マウスの脳血液関門は生後1週頃に完成されると報告されている．従って，PrPLP/Dplは脳血液関門の形成に重要な機能を担っているかもしれない．これからの研究成果に期待したい．

3. ノックアウトマウスによるプリオンタンパク質の機能解析

1） プリオンタンパク質と神経細胞変性死

Weissmannらのグループが最初に報告したPrP欠損マウス（以下，Zrch PrP−/−マウス）は，何ら神経学的異常を呈しないことが報告された[20]．しかし，我々が独自に作製したPrP欠損マウス（以下，Ngsk PrP−/−マウス）は，老齢になると小脳プルキンエ細胞の著明な変性死を起こし，失調性歩行を呈した（**図2**）[21]．さらに我々は，Ngsk PrP−/−マウスにPrP遺伝子を再導入することにより，プルキンエ細胞死が正常に回復することを証明し，PrP^Cがプルキンエ細胞の長期生存維持に必要であることを示した[22]．しかし，なぜこのような表現型の違いが起こるのか不明で

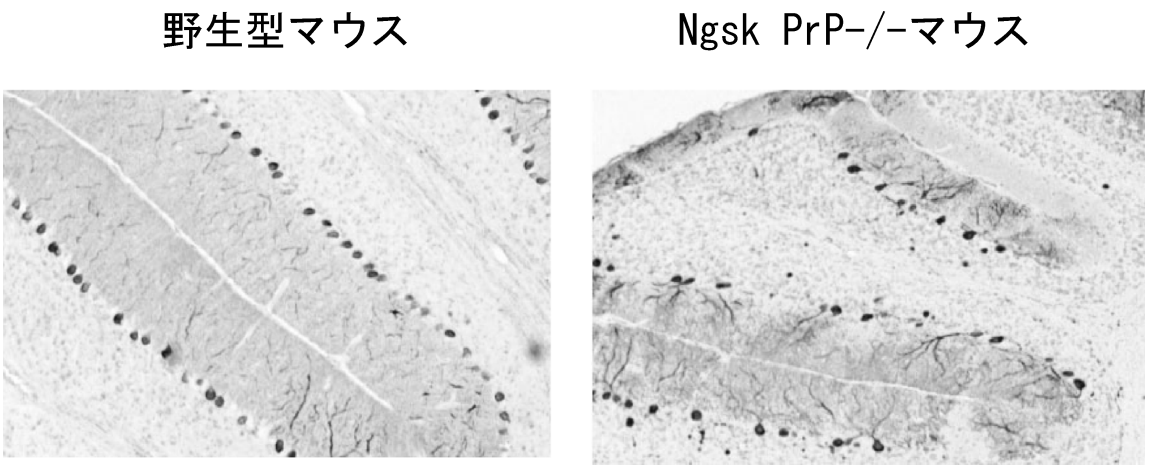

図2 Ngsk PrP−/−マウスにおけるプルキンエ細胞変性死
野生型マウスの小脳では，抗カルビンディン抗体で染色される多数のプルキンエ細胞が認められる．Ngsk PrP−/−マウスでは，変性死のため，その数が著明に減少している．

あった．

我々とカナダのグループはそれぞれ独自に，Ngsk PrP−/−マウスのノックアウトされたPrP遺伝子座ではスプライシング異常が起こり，下流に存在するPrPLP/Dpl遺伝子が脳内で過剰発現していることを見出した（**図3**）[14,15]．Zrch PrP−/−マウスではこのようなスプライシング異常は認められなかった[14,15]．最近我々は，このスプライシング異常がPrP遺伝子の最終エキソンのスプライシングアクセプターの欠損によることを，培養細胞系を用いて明らかにした[23]．Ngsk PrP−/−マウスではスプライシングアクセプターを含む領域がネオマイシン耐性遺伝子と置換され欠損している．しかし，Zrch PrP−/−マウスでは，この領域は正常のままである．従って，PrP^C非存在下におけるPrPLP/Dplの発現の違いが，両者間に認められた表現型の違いをもたらしている可能性が強く示唆された．そこで我々とカナダのグループは独自に，Zrch PrP−/−マウスにPrPLP/Dpl遺伝子を導入した結果，Ngsk PrP−/−マウスと同様に，これらのマウスが失調性歩行やプルキンエ細胞死を呈することを見出し，PrP^Cの非存在下にPrPLP/Dplが過剰発現すると，プルキンエ細胞死が起こることを明らかにした[24,25]．つまりこれらの結果は，PrP^CはPrPLP/Dplと機能的に拮抗し，PrPLP/Dplの神経細胞変性作用を阻害することを示した．

PrP^CとPrPLP/Dplとの拮抗メカニズムは，現在不明である．Weissmann博士は，大変興味深い仮説を提唱している（**図4**）[26]．この仮説では，二つの分子（未同定）を仮定している．一つはPrP^Cに対するリガンド分子で，もう一つはPrP^Cと同じような高次構造を持つ分子πである．正常マウスでは，PrP^Cがリガンド分子と強く結合し，プル

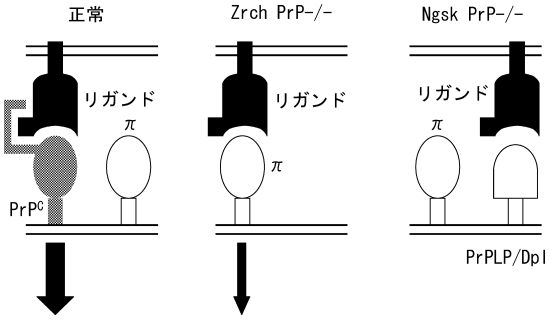

図4 プルキンエ細胞変性死の分子機構
正常マウスでは，PrP^Cがそのリガンドと結合し，プルキンエ細胞の生存に必要なシグナルを産生する．Zrch PrP−/−マウスでは，PrP^Cの代わりにPrP類似タンパク質(π)がPrPのリガンドと結合しシグナルを産生する．Ngsk PrP−/−マウスでは，PrPLP/Dplの過剰発現によりπとリガンドとの結合が阻害され，プルキンエ細胞変性死が起こる．

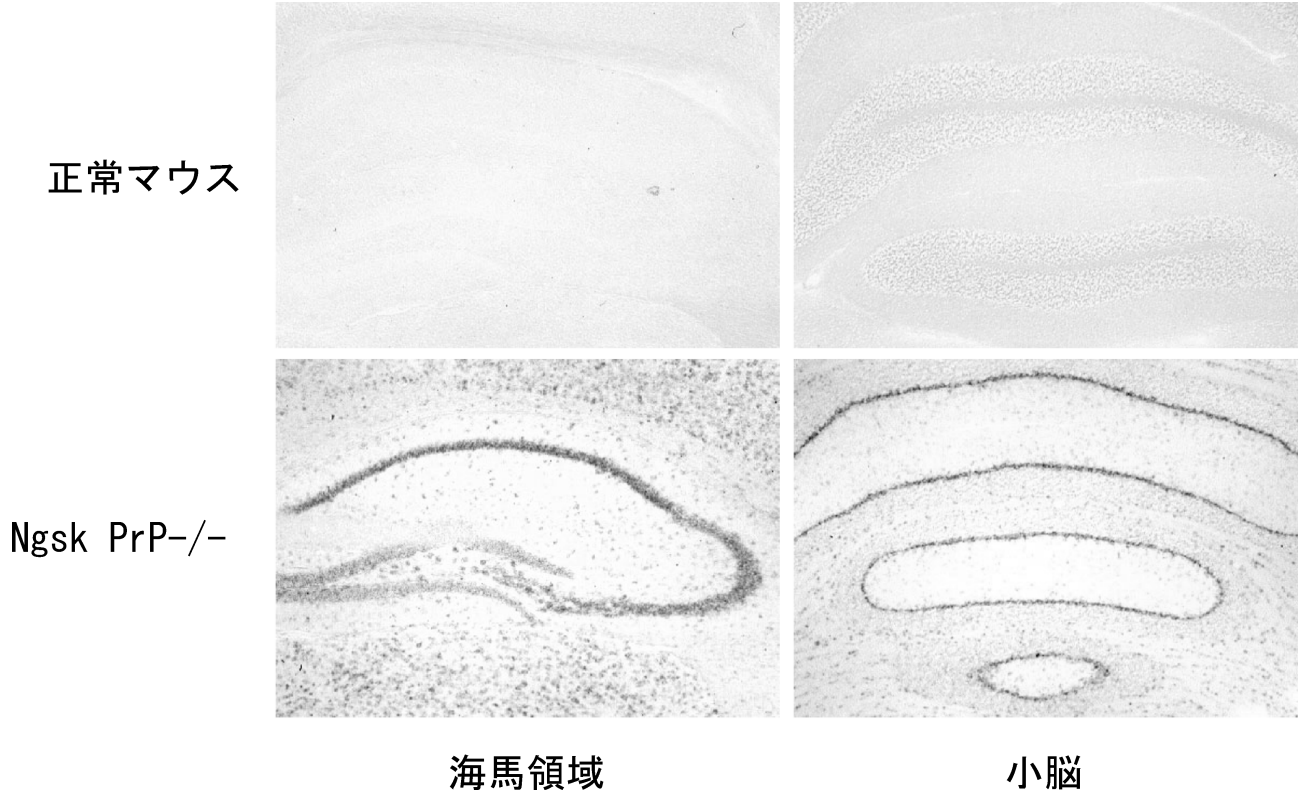

図3 *in situ* hybridizationによるPrPLP/Dplの脳内発現
PrPLP/Dplは正常マウスの脳内では発現していない．しかし，Ngsk PrP−/−マウスの脳内では，全ての神経細胞にPrPLP/Dplの発現が認められる．特に，海馬領域の神経細胞や小脳プルキンエ細胞に強い発現が認められる．

キンエ細胞の生存に必要なシグナルを形成する．またZrch PrP−/−マウスでは，PrP^{c}の代わりに分子πがリガンドと弱いながらも結合し，シグナルを伝達する．しかし，Ngsk PrP−/−マウスでは，過剰発現するPrPLP/Dplが分子πとリガンド分子との結合を阻害し，シグナルの伝達を妨害する．このため，プルキンエ細胞死が起こる．この仮説を証明するためには，未知の二つの分子を同定する必要がある．

一方Wongらは，PrPLP/Dplが過剰発現しているマウスの脳内では，PrPLP/Dplを発現しないZrch PrP−/−マウスの脳内より，酸化ストレスが高いことを報告している[27]．またBounharらは，アポトーシスタンパク質Baxによって誘導される神経細胞のアポトーシスを，PrP^{c}が抑制することを報告している[28]．これらの結果は，以下のような拮抗メカニズムの可能性を示唆している．つまり，PrPLP/Dplの過剰発現は過剰な酸化ストレスをもたらし，プルキンエ細胞を死に至らしめるが，PrP^{c}は抗アポトーシス効果によってプルキンエ細胞死を阻害する．これからの研究成果に期待したい．

2） プリオンタンパク質と虚血性神経細胞死

我々は，PrP^{c}が虚血性細胞死から神経細胞を保護する機能も有することを見出した[29]．Zrch PrP−/−マウスの両側の総頚動脈を10分間一過性に閉塞すると，海馬神経細胞に著明なアポトーシスが認められた．興味深いことに，Ngsk PrP−/−マウス（PrPLP/Dplを発現する）に同様な一過性の虚血を与えると，Zrch PrP−/−マウスと比べてアポトーシスは増悪した．しかし，野生型マウスでは，このような海馬神経細胞のアポトーシスはほとんど認められなかった．他のグループも同様な結果を報告している．McLennanらは，Zrch PrP−/−マウスの中大脳動脈を完全に閉塞すると，野生型マウスと比べて，Zrch PrP−/−マウスでは梗塞巣が著明に拡大することを報告した[30]．これらの結果は，PrP^{c}が虚血ストレスからも神経細胞を保護する機能を有することを示した．

3） プリオンタンパク質と高次脳機能

Weissmannらのグループは，Zrch PrP−/−マウスに水迷路テスト（water-maze test）等の学習・記憶テストを行い，PrP^{c}がこのような高次脳機能に関与するのか検討した[20]．その結果，Zrch PrP−/−マウスは野生型マウスと同様に正常な学習・記憶能力を示した[20]．しかし後に，Collingeらは，Zrch PrP−/−マウス脳の海馬CA1領域における電気生理学的解析を行い，学習・記憶に関係している長期増強（long-term potentiation：LTP）の異常を報告し，PrP^{c}が学習・記憶の高次脳機能に関与する可能性を示した[31]．Nishidaらは，Weissmannらのグループと異なる学習試験（water-finding test）をNgsk PrP−/−マウスに行った結果，Ngsk PrP−/−マウスが学習行動の異常を呈することを見出した[32]．これらの結果は，PrP^{c}が全ての学習・記憶でなく，あるタイプの学習・記憶に関与している可能性を示した．またToblerらは，Zrch PrP−/−マウスが日内周期異常や睡眠異常を呈することを報告した[33]．つまりこれらの結果は，PrP^{c}が学習・記憶，体内時計の維持また睡眠の調節といった脳の高次機能に関与していることを示している．

4） プリオンタンパク質とグリア細胞機能

我々は，Ngsk PrP−/−マウスの脊髄および末梢神経系に著明な脱髄を見出した[22]．また我々は，Zrch PrP−/−マウスにおいても，同様な脱髄を見出した[22]．脱髄は主に大径の神経繊維に認められ，その数や程度は齢とともに増強した．これらの結果は，PrP^{c}が髄鞘を形成するオリゴデンドロサイトやシュワン細胞の機能に関与し，髄鞘の形成維持に重要であることを示した．

5） プリオンタンパク質のリバースジェネティクス

PrP^{c}がPrPLP/Dplと拮抗し，プルキンエ細胞変性死を抑制するという結果は，リバースジェネティクスによるPrP^{c}の構造・機能解析を可能にした．我々は，欠損やアミノ酸変異を有する様々なPrPをNgsk PrP−/−マウスに発現させることにより，プルキンエ細胞変性死を阻害するのに重要なPrPの領域を検索した[34]．その結果，N末端アミノ酸23−88を欠損するPrPΔ23−88はPrPLP/Dplによるプルキンエ細胞死を阻害できないことを見出し，この部位にPrPLP/Dplと拮抗する重要な領域が存在することを見出した[34]．この部位はPrPに特有なoctapeptide repeat領域を含んでいるために，この領域がPrPLP/Dplとの拮抗に重要であると当初考えられた．しかし我々は，octapeptide repeat領域（アミノ酸51−90）のみを欠損するPrPΔORもPrPLP/Dplと拮抗しプルキンエ細胞死を抑制できることを見出した（未発表）．また我々は，octapeptide repeat領域よりさらにN末端領域（アミノ酸25−50）を欠損するPrPΔpreORもプルキンエ細胞死を抑制できることも見出した（未発表）．つまりこれらの結果は，PrPLP/Dplと拮抗しプルキンエ細胞死を抑制するのに重要な部位は，PrP^{c}のN末端領域の特定な1箇所の部位でなく，PrP^{c}のN末端領域の広範な部位に少なくとも2箇所以上存在することを示した．

4. プリオン病におけるプリオンタンパク質の役割

1） プリオン病

プリオン病は，新規の病原体「プリオン」の感染により発症する致死性および伝播性海綿状脳症（transmissible

spongiform encephalopathy）の総称である．組織病理学的変化は中枢神経系のみに限局し，神経細胞死を伴う海綿状空胞変性，アストロサイトやミクログリアの増生（グリオーシス），またアミロイド斑（クールー斑）などが認められる[8]．

動物では，ヒツジに自然発症する病因不明のスクレーピー（scrapie）が有名である．その他の動物のプリオン病としては，1986年頃から英国において大量に発生が認められたウシ海綿状脳症（狂牛病，bovine spongiform encephalopathy：BSE），伝播性ミンク脳症，そしてシカ慢性消耗性疾患等が知られている[35]．

ヒトのプリオン病には，クロイツフェルト・ヤコブ病（Creutzfeldt-Jakob disease：CJD），ゲルストマン・ストロイスラー・シェインカー症候群（Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome：GSS），クールー（Kuru）及び致死性家族性不眠症（fatal familial insomnia：FFI）がある（**図5**）[8]．CJDは初老期に発症し，痴呆や小脳機能障害等を主症状とする．ほとんどのCJD（85～90%）は，病因は不明で散発性に発症する（散発性CJD：sporadic CJD）．10～15%のCJDは，PrP遺伝子に変異を有し，優性遺伝を呈する（家族性CJD：familial CJD）．さらに，感染が原因であると明らかに特定できる感染性CJDがある．その代表は，狂牛病から感染したと考えられる異型（variant）CJDと，CJD汚染成長ホルモン投与や汚染脳硬膜移植等による医原性（iatrogenic）CJDがある．またクールーは，パプア・ニューギニアのフォア（Fore）族の子供と成人女性に主にみられた小脳失調症を呈する疾患で，食人慣習による経口感染が病因と考えられている．GSSとFFIは，遺伝性プリオン病で，PrP遺伝子に変異を有する．

2） 新規病原体「プリオン」

プリオン（prion：*pro*teinaceous *in*fectious particle）とは，ノーベル医学・生理学賞を受賞したPrusiner博士が，プリオン病の病原体に対しこれまでの病原微生物と異なる病原体として命名したものである[1]．これまでに発見されている病原微生物（細菌，ウイルスおよび真菌など）は，増殖のための遺伝情報として必ずDNAやRNAなどの核酸を保持している．しかし，現在の分子生物学的手法を駆使しても，未だプリオンに特有な核酸は検出されていない．このことは，プリオンが増殖のために核酸を必要としない新規の病原体であることを意味している．実際，プリオンはDNaseやRNaseなどの核酸分解酵素や紫外線などに耐性を示す．しかし一方で，プリオンはフェノール，尿素および塩酸グアニジンなどのタンパク質変性剤に感受性である．つまりこれらの事実は，プリオンが核酸を保持しないタンパク質を主成分とする新規の病原体であることを示している．

3） プリオンとプリオンタンパク質

Prusiner博士らは，プリオン感染ハムスター脳よりプリオンを高純度に精製することに成功し，この精製分画に特異的に認められるタンパク質としてPrP^{Sc}を同定した[36]．さらに彼らは，PrP^{Sc}とプリオン感染価の両者の挙動が一致することを示し[37]，「プリオン仮説」または「タンパク質唯一仮説」を提唱した[1]．この仮説によると，プリオンはPrP^{Sc}から構成され，PrP^{Sc}がPrP^{C}をPrP^{Sc}に変換させると考えられている．

我々や他の研究者らは，この仮説の是非を検討するために，PrP−/−マウスを独自に作製し感染実験を行った[38~41]．その結果，野生型マウスは全て感染し死亡するのに対し，PrP−/−マウスはプリオンに感染せず1匹もプリオン病に罹らないことを報告した[38~41]．また，野生型マウスではプリオンは増殖し，PrP^{Sc}は過剰に産生されていた[38~41]．しかし，PrP−/−マウスではプリオンもPrP^{Sc}も産生されていなかった[38~41]．これらの結果は，プリオンの増殖，すなわちPrP^{Sc}の産生にはPrP^{C}が必要であるとするプリオン仮説とよく一致しプリオン仮説を強く支持した．

しかし，プリオン仮説を最終的に証明するためには，

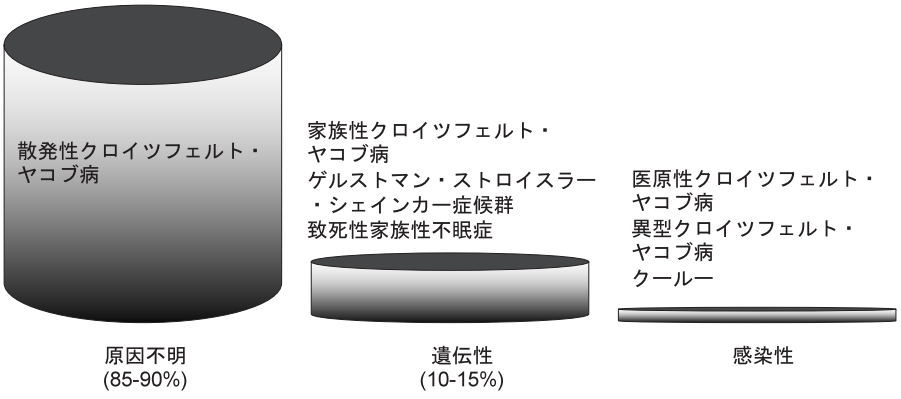

図5 ヒトプリオン病の成因による分類

PrP^{Sc}がプリオンそのものであること，つまりPrP^{Sc}それ自体が感染性でプリオン病を引き起こすことを示す必要がある．Kociskoらは，PrP^{Sc}とPrP^{C}の精製分画をある条件で*in vitro*で反応させると，PrP^{C}がPrP^{Sc}様PrP，すなわちプロテイナーゼK抵抗性PrPに変換することを報告した[42]．最近，このように反応させた分画（PrP^{Sc}様PrPが新たに産生される）の感染性が，何も反応させなかった分画（PrP^{Sc}様PrPは産生されない）と比べて明らかに高いことが報告された[43]．また，大腸菌から精製したリコンビナントPrPを，βシート構造を多く含有するPrP^{Sc}様PrPに*in vitro*で変換することにより，このPrP^{Sc}様リコンビナントPrPが感染性PrPに変換することが報告された[44]．すなわちこれらの結果は，PrP^{Sc}が感染性であるとするプリオン仮説に最終的な結論を導き出したと考えられる．

4） プリオン複製（PrP^{Sc}産生）モデル

プリオンはどのように複製するのであろうか．つまり，PrP^{C}はどのようにPrP^{Sc}へと構造変換するのであろうか．上述したように，PrP^{C}は，αヘリックスが多くβシートが極端に少ない構造を有している．一方，PrP^{Sc}では，αヘリックスよりβシートが多い構造となっている． 従って，αヘリックスからβシートへの二次構造の変化が，PrP^{C}からPrP^{Sc}への変換に重要だと考えられている[10]．しかし，その詳細な変換メカニズムは未だ解明されていない．また，宿主由来のシャペロン分子がこの構造変換の促進に関与している可能性が示唆されているが，その実体も不明である[45]．

現在，PrP^{C}のPrP^{Sc}への変換モデルとして，ヘテロダイマーモデルと核依存性重合モデルの二つのモデルが提唱されている[46,47]．ヘテロダイマーモデルによると，1分子のPrP^{Sc}が1分子のPrP^{C}とヘテロダイマーを形成し，PrP^{Sc}の触媒的作用を通してPrP^{C}が構造変化を起こし，PrP^{Sc}へと変換する（**図6A**）．新しく産生されたPrP^{Sc}は，再び1分子のPrP^{C}をPrP^{Sc}へと変換させる（図6A）．このようにして，PrP^{Sc}が産生され，プリオンは複製する．一方，核依存性重合モデルでは，PrP^{Sc}は複数個重合し，核（seed）を形成する（図6B）．PrP^{C}は，この核に順次重合（polymerization）することにより，構造変化を起こしPrP^{Sc}へと変換する（図6B）．こうして出来た長いPrP^{Sc}のポリマーは分断され，新たなPrP^{Sc}の核が形成される（図6B）．つまり，PrP^{C}はPrP^{Sc}の核に重合することによりPrP^{Sc}へと変換し，プリオンの増殖が起こる．どちらのモデルが正しいのか，今後の研究が待たれる．

5） プリオンタンパク質とプリオン病の分子病態

PrP−/−マウスがプリオンに感染してもプリオン病にかからないことは，PrP^{C}からPrP^{Sc}への構造変換が，プリオン病の病態の中心であることを示唆した[38〜41]．また，PrPの

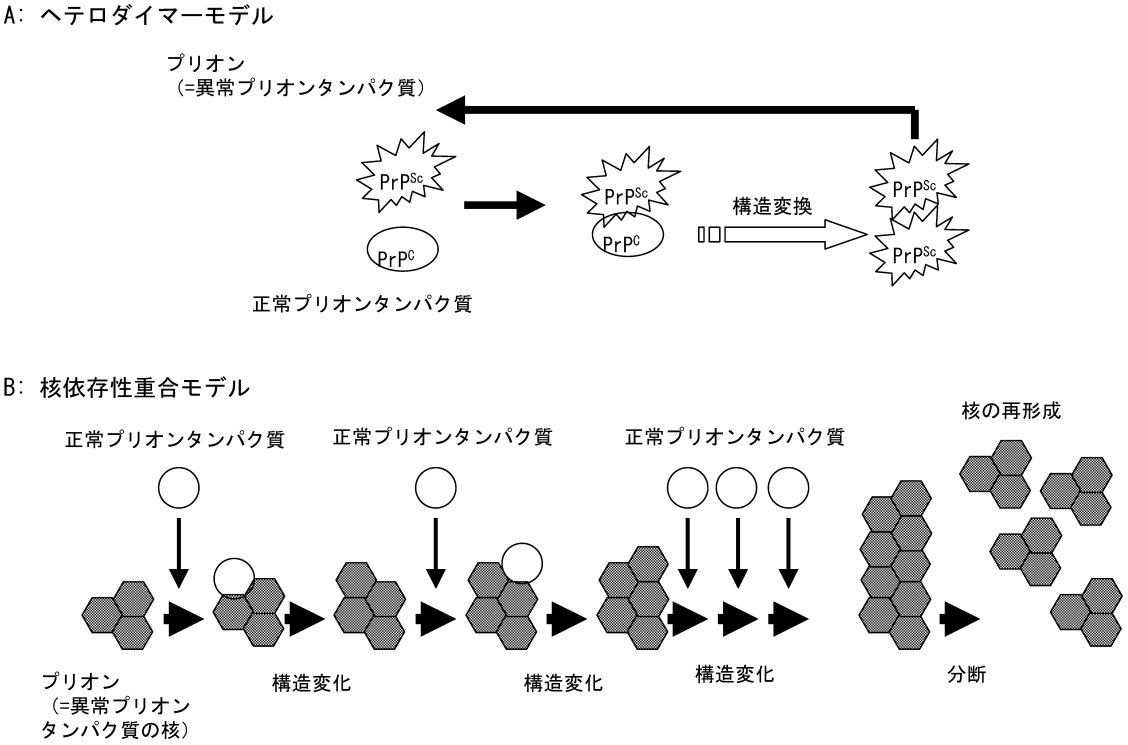

図6 プリオン複製モデル
詳細は本文参照．

コンディショナルノックアウトマウスを用いた感染実験の結果，PrP^C の発現がプリオン感染の途中でノックダウンされると，マウスはプリオン病を発病しないことが示され，プリオン病の病態における PrP の構造変換の中心的役割がさらに支持された[48]．しかし，プリオン病の詳細な分子病態は未だ完全に解明されていない．

プリオン病感染脳内では，PrP^C から PrP^{Sc} への変換が神経細胞内で構成的に行われる．これにより，PrP^{Sc} は脳内に過剰に蓄積する．Forloni らは，PrP のアミノ酸 106–126 に相当する疎水性の強い領域のペプチド（PrP106–126）が PrP^{Sc} と同様に凝集しやすくアミロイドを形成すること，また PrP106–126 が培養神経細胞にアポトーシスを起こしたり，グリア細胞の活性化を来したりすることを報告した[49,50]．これらの結果は，脳内に蓄積した PrP^{Sc} が細胞毒性を示し，神経細胞を変性死に至らしめる可能性を示した．しかし一方，PrP^C が PrP^{Sc} へ変換することにより PrP^C は減少する．このため，プリオン感染脳内では PrP^C の正常機能が障害され，この機能障害がプリオン病の病態に関与している可能性が指摘されている．PrP−/−マウスに認められた神経細胞変性死，脱髄，失調性歩行，学習・記憶障害，日内周期異常及び睡眠障害等の異常表現型は，プリオン病の病態と非常に類似している（**図 7**）[21,22,31~33]．このことは，プリオン病の病態に PrP^C の機能障害が関与しているとする説を支持している．

しかし上述したように，PrP^C の機能消失のみではプルキンエ細胞変性死は起こらない．プルキンエ細胞が変性死を起こすには，PrP^C の機能消失と PrPLP/Dpl の脳内異所性過剰発現が必要である（**図 8**）．しかし，プリオン感染脳内では，PrPLP/Dpl は発現していない[51]．従って，PrPLP/Dpl それ自体はプリオン病の病態に関係がない．興味深いことに，Shmerling らは PrP の N 末端 32–135 を欠損する PrPΔ32–135 を Zrch PrP−/−マウスに発現させると，これらのマウスがプルキンエ細胞の変性死や顆粒細胞の変性死を起こし，小脳失調性歩行を呈することを報告した[52]． PrPΔ32–135 は PrPLP/Dpl との相同領域に相当する．つまり，PrPΔ32–135 による神経細胞死と PrPLP/Dpl の過剰発現によるプルキンエ細胞死には，同様な分子機構が関

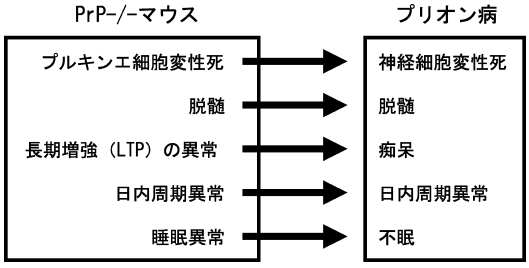

図 7 PrP−/−マウスにおける異常表現型とプリオン病の病態との類似点

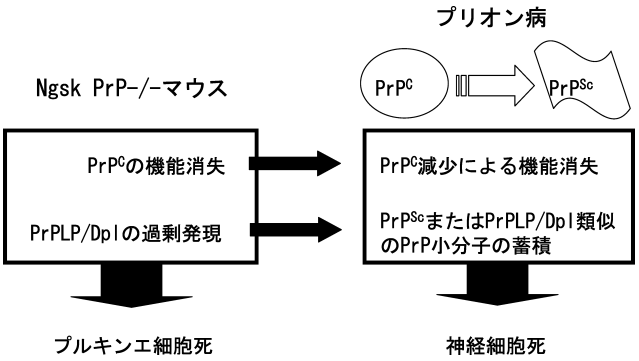

図 8 Ngsk PrP−/−マウスのプルキンエ細胞変性死から推測されるプリオン病における神経細胞変性死のメカニズム

PrP^C から PrP^{Sc} への変換に伴う PrP^C の正常機能消失と PrP^{Sc} または PrPLP/Dpl 類似の PrP 小分子の蓄積の両方が，プリオン病における神経細胞変性死には必要である．

与している可能性が考えられた．プリオン感染脳内でも，このように N 末端領域を欠損するプロテイナーゼ K 抵抗性の PrP 分子が検出されている[53]．従って，このような PrPLP/Dpl 類似の PrP 小分子が，プリオン病の神経細胞変性死に関与しているかもしれない（図 8）．または，PrP^{Sc} そのものが PrPLP/Dpl と類似の機能を果たし，神経細胞変性死を来しているのかもしれない（図 8）．今後の研究成果に期待したい．

5. おわりに

多くの研究者らの努力の結果，プリオン病研究は飛躍的に進歩してきた．しかし，未だプリオン病は不治の病である．治療法の確立を早急に行う必要がある．また，狂牛病から感染した異型 CJD では，従来の CJD と異なり，プリオンが中枢神経系のみでなく，扁桃腺や盲腸などのリンパ組織や血液など末梢の組織にも存在する[54]．プリオン病は，発病前に診断することは非常に困難である．従って，潜在的にプリオンに感染しているヒトを介した 2 次感染の増大が危惧されている．実際英国では，輸血を介して感染したと考えられるケースが 2 例報告されている[55,56]．また，移植医療などの高度医療が進むにつれ，その感染の危険性は増大すると考えられる．従って，このようなプリオン病の感染の連鎖を食い止めるには，プリオン病の発症前診断法の確立，及びプリオン病の予防法の確立，特にプリオンワクチンの開発が早急に必要である．

謝辞

本稿に紹介しました研究成果は，私が長年在籍しました長崎大学大学院分子病態学講座分子解析学分野（片峰茂教授）の皆さんの協力によるものです．ここに，感謝申し上げます．

文 献

1) Prusiner, S.B. (1982) *Science*, **216**, 136–144.
2) Zhang, H., Sawashita, J., Fu, X., Korenaga, T., Yan, J., Mori, M., & Higuchi, K. (2006) *FASEB J*., **20**, 1012–1014.
3) Prusiner, S.B. (1991) *Science*, **252**, 1515–1522.
4) Schatzl, H.M., Da Costa, M., Taylor, L., Cohen, F.E., & Prusiner, S.B. (1995) *J. Mol. Biol*., **245**, 362–374.
5) Oesch, B., Westaway, D., Walchli, M., McKinley, M.P., Kent, S.B., Aebersold, R., Barry, R.A., Tempst, P., Teplow, D.B., Hood, L.E., Prusiner, S.B., & Weissmann, C. (1985) *Cell*, **40**, 735–746.
6) Moser, M., Colello, R.J., Pott, U., & Oesch, B. (1995) *Neuron*, **14**, 509–517.
7) Brown, D.R., Besinger, A., Herms, J.W., & Kretzschmar, H.A. (1998) *Neuroreport*, **9**, 1425–1429.
8) DeArmond, S.J. & Prusiner, S.B. (1995) *Am. J. Pathol*., **146**, 785–811.
9) Stahl, N., Borchelt, D.R., Hsiao, K., & Prusiner, S.B. (1987) *Cell*, **51**, 229–240.
10) Pan, K.M., Baldwin, M., Nguyen, J., Gasset, M., Serban, A., Groth, D., Mehlhorn, I., Huang, Z., Fletterick, R.J., Cohen, F.E., & Prusiner, S.B. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 10962–10966.
11) Riek, R., Hornemann, S., Wider, G., Glockshuber, R., & Wuthrich, K. (1997) *FEBS Lett*., **413**, 282–288.
12) Brown, D.R., Nicholas, R.S., & Canevari, L. (2002) *J. Neurosci. Res*., **67**, 211–224.
13) Vincent, B., Paitel, E., Saftig, P., Frobert, Y., Hartmann, D., De Strooper, B., Grassi, J., Lopez-Perez, E., & Checler, F. (2001) *J. Biol. Chem*., **276**, 37743–37746.
14) Moore, R.C., Lee, I.Y., Silverman, G.L., Harrison, P.M., Strome, R., Heinrich, C., Karunaratne, A., Pasternak, S.H., Chishti, M.A., Liang, Y., Mastrangelo, P., Wang, K., Smit, A.F., Katamine, S., Carlson, G.A., Cohen, F.E., Prusiner, S.B., Melton, D.W., Tremblay, P., Hood, L.E., & Westaway, D. (1999) *J. Mol. Biol*., **292**, 797–817.
15) Li, A., Sakaguchi, S., Atarashi, R., Roy, B.C., Nakaoke, R., Arima, K., Okimura, N., Kopacek, J., & Shigematsu, K. (2000) *Cell. Mol. Neurobiol*., **20**, 553–567.
16) Mo, H., Moore, R.C., Cohen, F.E., Westaway, D., Prusiner, S.B., Wright, P.E., & Dyson, H.J. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 2352–2357.
17) Li, A., Sakaguchi, S., Shigematsu, K., Atarashi, R., Roy, B.C., Nakaoke, R., Arima, K., Okimura, N., Kopacek, J., & Katamine, S. (2000) *Am. J. Pathol*., **157**, 1447–1452.
18) Behrens, A., Genoud, N., Naumann, H., Rulicke, T., Janett, F., Heppner, F.L., Ledermann, B., & Aguzzi, A. (2002) *EMBO J.*, **21**, 3652–3658.
19) Peoćh, K., Serres, C., Frobert, Y., Martin, C., Lehmann, S., Chasseigneaux, S., Sazdovitch, V., Grassi, J., Jouannet, P., Launay, J.M., & Laplanche, J.L. (2002) *J. Biol. Chem*., **277**, 43071–43078.
20) Bueler, H., Fischer, M., Lang, Y., Bluethmann, H., Lipp, H.P., DeArmond, S.J., Prusiner, S.B., Aguet, M., & Weissmann, C. (1992) *Nature*, **356**, 577–582.
21) Sakaguchi, S., Katamine, S., Nishida, N., Moriuchi, R., Shigematsu, K., Sugimoto, T., Nakatani, A., Kataoka, Y., Houtani, T., Shirabe, S., Okada, H., Hasegawa, S., Miyamoto, T., & Noda, T. (1996) *Nature*, **380**, 528–531.
22) Nishida, N., Tremblay, P., Sugimoto, T., Shigematsu, K., Shirabe, S., Petromilli, C., Erpel, S.P., Nakaoke, R., Atarashi, R., Houtani, T., Torchia, M., Sakaguchi, S., DeArmond, S.J., Prusiner, S.B., & Katamine, S. (1999) *Lab. Invest*., **79**, 689–697.
23) Yoshikawa, D., Kopacek, J., Yamaguchi, N., Ishibashi, D., Yamanaka, H., Yamaguchi, Y., Katamine, S., & Sakaguchi, S. (2007) *Gene*, **386**, 139–146.
24) Moore, R.C., Mastrangelo, P., Bouzamondo, E., Heinrich, C., Legname, G., Prusiner, S.B., Hood, L., Westaway, D., DeArmond, S.J., & Tremblay, P. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 15288–15293.
25) Yamaguchi, N., Sakaguchi, S., Shigematsu, K., Okimura, N., & Katamine, S. (2004) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **319**, 1247–1252.
26) Weissmann, C. & Aguzzi, A. (1999) *Science*, **286**, 914–915.
27) Wong, B.S., Liu, T., Paisley, D., Li, R., Pan, T., Chen, S.G., Perry, G., Petersen, R.B., Smith, M.A., Melton, D.W., Gambetti, P., Brown, D.R., & Sy, M.S. (2001) *Mol. Cell. Neurosci*., **17**, 768–775.
28) Bounhar, Y., Zhang, Y., Goodyer, C.G., & LeBlanc, A. (2001) *J. Biol. Chem*., **276**, 39145–39149.
29) Sakurai-Yamashita, Y., Sakaguchi, S., Yoshikawa, D., Okimura, N., Masuda, Y., Katamine, S., & Niwa, M. (2005) *Neuroscience*, **136**, 281–287.
30) McLennan, N.F., Brennan, P.M., McNeill, A., Davies, I., Fotheringham, A., Rennison, K.A., Ritchie, D., Brannan, F., Head, M.W., Ironside, J.W., Williams, A., & Bell, J.E. (2004) *Am. J. Pathol*., **165**, 227–235.
31) Collinge, J., Whittington, M.A., Sidle, K.C., Smith, C.J., Palmer, M.S., Clarke, A.R., & Jefferys, J.G. (1994) *Nature*, **370**, 295–297.
32) Nishida, N., Katamine, S., Shigematsu, K., Nakatani, A., Sakamoto, N., Hasegawa, S., Nakaoke, R., Atarashi, R., Kataoka, Y., & Miyamoto, T. (1997) *Cell. Mol. Neurobiol*., **17**, 537–545.
33) Tobler, I., Gaus, S.E., Deboer, T., Achermann, P., Fischer, M., Rulicke, T., Moser, M., Oesch, B., McBride, P.A., & Manson, J.C. (1996) *Nature*, **380**, 639–642.
34) Atarashi, R., Nishida, N., Shigematsu, K., Goto, S., Kondo, T., Sakaguchi, S., & Katamine, S. (2003) *J. Biol. Chem*., **278**, 28944–28949.
35) Prusiner, S.B. (1997) *Science*, **278**, 245–251.
36) Bolton, D.C., McKinley, M.P., & Prusiner, S.B. (1982) *Science*, **218**, 1309–1311.
37) McKinley, M.P., Bolton, D.C., & Prusiner, S.B. (1983) *Cell*, **35**, 57–62.
38) Bueler, H., Aguzzi, A., Sailer, A., Greiner, R.A., Autenried, P., Aguet, M., & Weissmann, C. (1993) *Cell*, **73**, 1339–1347.
39) Prusiner, S.B., Groth, D., Serban, A., Koehler, R., Foster, D., Torchia, M., Burton, D., Yang, S.L., & DeArmond, S.J. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 10608–10612.
40) Manson, J.C., Clarke, A.R., McBride, P.A., McConnell, I., & Hope, J. (1994) *Neurodegeneration*, **3**, 331–340.
41) Sakaguchi, S., Katamine, S., Shigematsu, K., Nakatani, A., Moriuchi, R., Nishida, N., Kurokawa, K., Nakaoke, R., Sato, H., Jishage, K., Kuno, J., Noda, T., & Miyamoto, T. (1995) *J. Virol*., **69**, 7586–7592.
42) Kocisko, D.A., Come, J.H., Priola, S.A., Chesebro, B., Raymond, G.J., Lansbury, P.T., & Caughey, B. (1994) *Nature*, **370**, 471–474.
43) Castilla, J., Saa, P., Hetz, C., & Soto, C. (2005) *Cell*, **121**, 195–

206.
44) Legname, G., Baskakov, I.V., Nguyen, H.O., Riesner, D., Cohen, F.E., DeArmond, S.J., & Prusiner, S.B. (2004) *Science*, **305**, 673–676.
45) Telling, G.C., Scott, M., Mastrianni, J., Gabizon, R., Torchia, M., Cohen, F.E., DeArmond, S.J., & Prusiner, S.B. (1995) *Cell*, **83**, 79–90.
46) Cohen, F.E., Pan, K.M., Huang, Z., Baldwin, M., Fletterick, R. J., & Prusiner, S.B. (1994) *Science*, **264**, 530–531.
47) Lansbury, P.T. (1994) *Science*, **265**, 1510.
48) Mallucci, G., Dickinson, A., Linehan, J., Klohn, P.C., Brandner, S., & Collinge, J. (2003) *Science*, **302**, 871–874.
49) Forloni, G., Angeretti, N., Chiesa, R., Monzani, E., Salmona, M., Bugiani, O., & Tagliavini, F. (1993) *Nature*, **362**, 543–546.
50) Forloni, G., Del Bo, R., Angeretti, N., Chiesa, R., Smiroldo, S., Doni, R., Ghibaudi, E., Salmona, M., Porro, M., Verga, L., Giaccone, G., Bugiani, O., & Tagliavini, F. (1994) *Eur. J. Neurosci*., **6**, 1415–1422.
51) Tuzi, N.L., Gall, E., Melton, D., & Manson, J.C. (2002) *J. Gen. Virol*., **83**, 705–711.
52) Shmerling, D., Hegyi, I., Fischer, M., Blattler, T., Brandner, S., Gotz, J., Rulicke, T., Flechsig, E., Cozzio, A., von Mering, C., Hangartner, C., Aguzzi, A., & Weissmann, C. (1998) *Cell*, **93**, 203–214.
53) Chen, S.G., Teplow, D.B., Parchi, P., Teller, J.K., Gambetti, P., & Autilio-Gambetti, L. (1995) *J. Biol. Chem*., **270**, 19173–19180.
54) Hill, A.F., Butterworth, R.J., Joiner, S., Jackson, G., Rossor, M. N., Thomas, D.J., Frosh, A., Tolley, N., Bell, J.E., Spencer, M., King, A., Al-Sarraj, S., Ironside, J.W., Lantos, P.L., & Collinge, J. (1999) *Lancet*, **353**, 183–189.
55) Llewelyn, C.A., Hewitt, P.E., Knight, R.S.G., Amar, K., Cousens, S., Mackenzie, J., & Will, R.G. (2004) *Lancet*, **363**, 417–421.
56) Peden, A.H., Head, M.W., Ritchie, D.L., Bell, J.E., & Ironside, J.W. (2004) *Lancet*, **364**, 527–529.