

厚生労働省特定疾患
遅発性ウイルス感染調査研究班
平成12年度研究報告書

平成13年3月

Annual Report of the Slow Virus
Infection Research Committee,
The Ministry of Health, Labour
and Welfare of Japan

班長 北本 哲之

Chairman: Tetsuyuki Kitamoto, M.D.
Department of Neurological Science
Tohoku University School of Medicine

はじめに

平成12年度の遅発性ウイルス感染調査研究班研究報告書を
公表する。

平成13年3月

班長 北本 哲之

遅発性ウイルス感染調査研究班名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
主任研究者	北 本 哲 之	東北大学大学院医学系研究科 病態神経学分野	教 授
分担研究者	片 峰 茂	長崎大学医学部細菌学講座	教 授
	品 川 森 一	帯広畜産大学獣医学科公衆衛生	教 授
	堂 浦 克 美	九州大学大学院医学系研究科脳研病理	講 師
	中 村 好 一	自治医科大学疫学・地域保健部門	教 授
	毛 利 資 郎	九州大学大学院医学系研究科 実験動物学講座	教 授
	立 石 潤	老人保健施設 春風	施設長
	田 中 智 之	堺市衛生研究所	所 長
	松 田 治 男	広島大学生物生産学部免疫生物学	教 授
	三 好 一 郎	東北大学大学院医学系研究科 附属動物実験施設	助 手
	網 康 至	国立感染症研究所 村山分室	動物管理室 主任研究官
	高 須 俊 明	日本大学総合科学研究所所属医学部	教 授
	堀 田 博	神戸大学医学部微生物学教室	教 授
	二 瓶 健 次	国立小児病院神経科	医 長
	金 子 清 俊	国立精神神経センター疾病研究第7部	部 長
長 嶋 和 郎	北海道大学医学部分子細胞病理学	教 授	

区 分	氏 名	所 属	職 名
分 担 研 究 者	保 井 孝 太 郎	東京都神経科学総合研究所 微生物学・免疫学研究部門	副所長
	佐 藤 猛	国立精神神経センター国府台病院	名誉院長
研 究 協 力 者	志 賀 裕 正	東北大学医学部附属病院神経内科	助 手
	村 井 弘 之	九州大学脳研神経内科	助 手
	森 若 文 雄	北海道大学大学院脳科学専攻 神経病態学講座	助教授
	岡 鎧 次	岡山大学医学部小児神経学講座	教 授
	西 川 隆	大阪大学大学院医学系研究科 D3 生体統合医学精神医学	助 手
	飯 沼 一 宇	東北大学大学院医学系研究科 小児医学講座小児病態学	教 授
	葛 原 茂 樹	三重大学医学部附属病院神経内科	教 授
	山 田 正 仁	金沢大学医学部医学科神経内科学講座	教 授
	小 林 央	新潟大学脳研究所	助 手
	黒 田 重 利	岡山大学医学部神経精神学教室	教 授
	水 澤 英 洋	東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究所脳神経機能病態学	教 授
	岩 淵 潔	神奈川県総合リハビリテーションセンター	部 長
黒 岩 義 之	横浜市立大学医学部神経内科	教 授	

目 次

総括研究報告書	1
平成12年度 研究報告会プログラム	5
分担研究報告	
1. JCウイルス遺伝子は血液中では細胞画分に検出される	11
東京都神経科学総合研究所 保井 孝太郎	
2. JCウイルスの細胞エントリーに関する研究	16
北海道大学医学部 長嶋 和郎	
3. (1)麻疹の感染情報と亜急性硬化性全脳炎	30
国立小児病院 二瓶 健次	
(2)出産直前の経胎盤感染によると思われるSSPEとその問題点	34
国立小児病院 二瓶 健次	
4. パプアニューギニア(PNG)のSSPE:臨床疫学像と症例対照研究	39
日本大学総合科学研究所 高須 俊明	
5. 麻疹ウイルス感染カニクイザルにおける免疫誘導	46
国立感染研究所 網 康至	
6. 麻疹ワクチン接種後あるいは自然麻疹罹患後の抗麻疹ウイルス抗体価の解析	51
神戸大学医学部 堀田 博	
7. 特定疾患治療研究事業による臨床調査団個人票をもとにした クロイツフェルト・ヤコブ病の疫学像とこれをもとにしたサーベイランス結果	61
自治医科大学 中村 好一	
8. クロイツフェルト・ヤコブ病の臨床像:第一回サーベイランス成績	73
国立精神神経センター・国府台病院 佐藤 猛	
9. KOマウスおよびニワトリを用いたPrP特異的モノクローナル抗体の作成	82
広島大学・生物生産・免疫生物 松田 治男	
10. 可溶性プリオン蛋白に対するモノクローナル抗体の作製	88
堺市衛生研究所 田中 智之	
11. (1)プリオン不活化剤の検討	96
帯広畜産大学獣医学科 品川 森一	

(2)日本に存在する羊スクレイピー病原体の多様性	102
帯広畜産大学獣医学科	品川 森一
1 2. 正常型プリオン蛋白質 (PrP ^{sc}) を分解するプロテアーゼの検索と、 プリオン病の病態解明に向けた基礎研究	110
国立精神神経センター	金子 清俊
1 3. ライソゾームにおける異常型プリオン蛋白の蓄積・分解に関する研究	114
九州大学大学院医学系研究科	堂浦 克美
1 4. プリオン蛋白類似蛋白 (PrPLP/Dpl) とプリオン感染実験	118
長崎大学医学部	片峰 茂
1 5. 遺伝性プリオン病のマウスへの伝播実験	126
老人保健施設・春風	立石 潤
1 6. プリオン蛋白(PrP)遺伝子操作マウスの作製	130
東北大学・大学院医・動物実験施設	三好 一郎
1 7. ヒト PrP 遺伝子発現マウスのプリオン感受性試験 (その4)	135
九州大・大学院医・実験動物学	毛利 資郎
1 8. フラグメント・プリオン蛋白の研究	140
東北大学大学院医学系研究科病態神経	北本 哲之
追加研究報告	
プリオン蛋白遺伝子コドン 200 の変異を有するクロイツフェルト・ヤコブ病の臨床的特徴	145
横浜市大・医・神経内科	戸田 宏幸
平成12年度 研究成果の刊行に関する一覧表	149

総括研究報告

総括研究報告

I. 研究目標

本研究の目的は、プリオン病、SSPE、PMLの3疾患の病態解明と発病予防である。今年度は3年間の研究期間の2年目にあたる。それぞれの疾患に対する具体的な研究目標は昨年度の総括研究報告書ですでに列挙済みであり、大きな変更点はない。

II. 研究成果（本年度）

1. プリオン病

a. モデル動物

モデル動物での、今年度の主な成果は2つある。ひとつは、トランスジェニックマウスとは異なり相同組換え法に基づいたマウスのプリオン蛋白遺伝子をヒト型に置換したノックインマウスが、ヒト・プリオンに対して高い感受性を示すことを明らかとしたことである（毛利、北本）。もう一つは、マウスのプリオン蛋白の過剰発現を目指してトランスジェニックマウスを作製し、従来からのマウスのプリオンに対する感受性を向上させたことである（三好、毛利）。また、ヒト型では成功したヒト・マウスキメラ遺伝子の導入が、ヒツジ型ではむしろ感受性を低下させることが明らかとなり、ヒツジ型の新しい遺伝子導入モデルの確立の必要性が出てきた（三好、品川）。また、従来からの野生型マウスを用いた感染実験の結果が報告され、家族性プリオン病のなかで、コドン102のGSSとコドン200、コドン232の変異例が伝播可能であることを報告した（立石）。中枢神経系ではなく、筋肉にプリオン蛋白が異常に沈着してくるモデルとして、クロロキン・ミオパチーが知られているが、この病変をもつ筋肉を野生型マウスの脳内に接種することによって、軽度の蛋白分解酵素抵抗性のプリオン蛋白が認められることを明らかとした（堂浦）。ただし、プリオン病で見られるような、プロテアーゼ抵抗性ではなく、プリオン病との関わりは現時点では不明である。

b. イムノアッセイ法

高い感度のイムノアッセイ法を確立するためには、異なるエピトープを認識するモノクローナル抗体が多数必要である。今年度は、プリオン蛋白のノックアウトマウスを利用して、可溶性プリオン蛋白（Hu122-230）に対するモノクローナル抗体を作製した（松田、田中、北本）。免疫染色、Western blotに使用できる抗体として、#175（松田）、TNT#9、#383、#2065（田中）を樹立した。これらの抗体は、プリオン蛋白のhelix-BとCを中心とした構造を認識する抗体で、今後イムノアッセイの確立だけでなく、プリオン蛋白の異常化を阻止するかどうかの検討も可能となってきている。

c. 予防法

簡便なプリオンの不活性化の処理を確立するのも、重要なことである。今年度は、グリシドールが

有効であることを明らかにした（品川）。グリシドールは、 10^2 以上感染性を低下させ、その不活性化のメカニズムとして、プリオン蛋白を加水分解する現象を、プリオン蛋白、アルブミンなどを用いて提示した。

d. 基礎研究

基礎研究として、4 つの新しい報告がなされた。1 つは、プリオン蛋白を分解する酵素の研究である（金子）。レコンピナントのハムスタープリオン蛋白を用いて、マウスの lipid rafts の分画にプリオン蛋白を分解する酵素活性が存在することを示した。分解酵素は一つではなく複数存在し、それぞれの酵素を同定する試みがなされている。2 番目は、昨年度報告のあった、プリオン蛋白類似蛋白（ドッベル）の研究である（片峰）。PrP のノックアウトマウスに発現するドッベルの有無が感染性に影響するかどうかを検討するため、ドッベルのない Zrch とドッベルのある Ngsk を比較したが、潜伏期間や病像に影響を及ぼさず、いまのところドッベルがプリオン病の病態に直接は関係していないことが示された。3 番目は、スクレーピーの株の研究である（品川）。スクレーピーのマウスへの感受性および Proteinase K 抵抗性から日本のスクレーピーは 3 種類に分類可能であることが明らかとなった。このスクレーピーの多様性は、英国のそれに類似しており、日本のスクレーピーが BSE を起こしうる可能性が指摘された。4 つめは、異常プリオン蛋白の分画に存在するプリオン蛋白のフラグメントの研究である（北本）。異常プリオン蛋白の分類として、タイプ 1 とタイプ 2 が知られているが、昨年度硬膜移植例のバリエーション型とクラシック型を分類可能とするプリオン蛋白のフラグメントの存在は、広くプリオン病の新しい分類に寄与するだけでなく、タイプ 1 でのフラグメントの存在は、モデル動物への感染性にも影響を及ぼすことを示した。

e. CJD サーベイランス

今年度の研究で最も進んだのは、CJD サーベイランスである。特定疾患の治療疾患として CJD と認定された患者さんの個人票を利用し、また許可を得られた患者さんについては、全国を 10 ブロックに分けそれぞれのブロックにサーベイランス委員をおいて直接診察・問診調査を行った（サーベイランス委員、中村、佐藤、北本、立石）。第2回の CJD サーベイランスで 112 例の検討がなされ、内 90 例が新規登録例であった。新規 90 例のうち、遺伝子異常のある家族性が 5 例、3 例が硬膜移植例であった。硬膜移植例は 1987 年以前に行われており、移植から発病までの期間の延長傾向が続いている。また、CJD サーベイランス委員会で、診断困難例などの検討を行い、前頭葉痴呆などの症例が問題例として上がった。また、遺伝子異常を伴う家族性 CJD についても検討した。

2. SSPE

臨床疫学調査として、3 つの報告がなされた。1 つは、麻疹の流行に関する調査である（二瓶）。麻疹は、1991 年に大きな流行があったが、その後は次第に減少傾向である。しかし、最近の麻疹の罹患年齢は 1 歳代が最も多くついで 0 歳代というように SSPE 発病の要因となる若年での発病が問題点である。2 つめは、SSPE 多発地であるニューギニアでの調査である（高須）。1997 年 4 月から 1999

年 11 月までの PNG での SSPE72 例の臨床疫学像を報告し、自然麻疹罹患後早期に（1 ヶ月以内）麻疹のワクチン接種を受けた患者群で、SSPE 発病の危険性が高いことを指摘した。3 つめは、胎児麻疹罹患後の SSPE の症例報告である（二瓶）。母体が麻疹感染し、経胎盤的に新生児が SSPE を引き起こした可能性が強い症例報告がなされた。麻疹ワクチン接種率が低下する現状では、妊娠中に麻疹に初感染する危険性も増しつつある。新しい感染経路として、胎児感染後の SSPE 発病も注目しなければならない。

ワクチン接種例と自然感染例で中和抗体価の変動を検討した（堀田）。ワクチン接種例では、中和抗体価が長続きしない傾向が得られた。また、ワクチン接種後 2-6 ヶ月で自然麻疹に罹患する症例が存在し、将来 SSPE 発病への動向調査が必要であろう。また、麻疹感染のモデルとして、カニクイザルを利用し、麻疹ウイルス排除機構を検討した（網）。モデル動物で、ワクチン例と初期感染例を比較し、ワクチン例では早期にリンパ球の活性化状態となることを明らかにした。

3. PML

JC ウイルス感染の基礎的研究として、2 つの新しい報告がなされた。まず、JC ウイルスの中枢神経系への侵入に関する研究が行われた（保井）。その結果、健常者と PML 患者ともに血清中には JC ウイルス遺伝子は検出されず、中和抗体が検出された。これらの結果から JC ウイルスの神経系への侵入にはフリーのウイルスではなく細胞に関連した形で侵入する可能性が考えられた。また、培養細胞での JC ウイルスの感染はなかなか樹立が困難であったが、今年度は感染が認められない細胞でも JC ウイルスの侵入が起こっていることを証明した（長嶋）。具体的には、JC ウイルスをヒト・マウス・サルの培養細胞株に感染させた結果、種を超えて JC ウイルスが細胞に吸着・侵入・核内への移行が認められることが明らかとなった。よって、ウイルス粒子のゲノムが核内で増殖するメカニズムが種の壁を構成している可能性が示唆された。

平成12年度研究報告会
プログラム

厚生省特定疾患 遅発性ウイルス感染調査研究班

平成12年度班会議プログラム (班長 北本 哲之)

日時：平成13年1月29日(月) 9:00~17:00
会場：全共連ビル・本館4階 中会議室
●東京都千代田区平河町2-7-9 全共連ビル
●電話 0120-888-694 フリーダイヤル

連絡先：東北大学大学院医学系研究科
病態神経学分野
〒980-8575 仙台市青葉区星陵町2-1

TEL (022) 717-8147

FAX (022) 717-8148

※ 発表は1題 5分~20分、討論5分の予定です。
スライドは30分前までに提出して下さい。
昼食は出席者全員の分を当方で用意致します。

〈 午前の部 〉

◆開会挨拶	9:00 ~ 9:10	班 長	北本 哲之
◆研究発表	9:10 ~ 12:00	座 長	北本 哲之

【9:10~9:25】 1. JC ウイルス遺伝子は血液中では細胞画分に検出される

演者名 保井 孝太郎¹
共同演者 加藤 孝宣¹

1) 東京都神経科学総合研究所・微生物研究部門

【9:25~9:40】 2. JC ウイルスの細胞エントリーに関する研究

演者名 鈴木 聡子¹
共同演者 駒込 理佳¹ 山田 美里¹ 長嶋 和郎¹

1) 北海道大学医学部・分子細胞病理学

【9:40~10:00】 3. (1)麻疹の感染情報と亜急性硬化性全脳炎

演者名 二瓶 健次¹
共同演者 伊藤 真美¹ 大橋 裕子¹ 内藤 春子¹

(2)出産直前の経胎盤感染によると思われる
SSPE とその問題点

演者名 井合 瑞恵²
共同演者 山下 純正² 山田 美智子² 岩本 弘子²
二瓶 健次¹

1) 国立小児病院・神経科

2) 神奈川県立こども医療センター・神経科

【10:00~10:20】 4. パプアニューギニア (PNG) の SSPE
：臨床疫学像と症例対照研究

演者名 高須 俊明¹ 三木 健司²
共同演者 中村 好一³ 尾島 俊之³ 谷原 真一⁴
大木 いずみ³ 駒瀬 勝啓⁵ 河西 竜太²
水谷 智彦⁶ Joyce M.Mgone⁷ Charles S.Mgone⁸
Peter G.Asuo⁹ Michael Alpers¹⁰ John Reader¹⁰

1) 日本大学総合科学研究所・医学部神経内科

2) 日本大学医学部神経内科・北里研究所

3) 自治医科大学・公衆衛生

4) 島根医科大学・公衆衛生

5) 北里研究所・生物製剤研究所・開発研究部

6) 日本大学医学部神経内科

7) ゴロカ基盤総合病院・小児科

8) PNG医学研究所・分子遺伝学

9) ゴロカ基盤総合病院

10) PNG医学研究所

【10:20~10:35】5. 麻疹ウイルス感染カニクイザルにおける免疫誘導

演者名 網 康至¹
共同演者 須崎 百合子¹ 片山 未来²
小船 富美夫² 甲斐 知恵子³

- 1) 国立感染症研究所・動物管理室
- 2) 国立感染症研究所・ウイルス製剤部
- 3) 東京大学・医科学研究所

【10:35~10:50】6. 麻疹ワクチン接種後あるいは自然麻疹罹患後の抗麻疹ウイルス抗体価の解析

演者名 堀田 博¹
共同演者 伊藤 正恵²

- 1) 神戸大学医学部・微生物学教室
- 2) 大阪府立公衆衛生研究所

*** 10:50 ~ 11:00 SSP EとPMLのまとめ（総合討論）***

【11:00~11:15】7. 特定疾患治療研究事業による臨床調査団個人票をもとにしたクロイツフェルト・ヤコブ病の疫学像とこれをもとにしたサーベイランス結果

演者名 中村 好一¹
共同演者 佐藤 猛² 志賀 裕正³ 村井 弘之⁴ 森若 文雄⁵
西川 隆⁶ 葛原 茂樹⁷ 山田 正仁⁸ 小林 央⁹
黒田 重利¹⁰ 水澤 英洋¹¹ 岩淵 潔¹² 黒岩 義之¹³
北本 哲之¹⁴

- 1) 自治医科大学・公衆衛生
- 2) 国立精神神経センター・国府台病院
- 3) 東北大学医学部附属病院・神経内科
- 4) 九州大学脳研・神経内科
- 5) 北海道大学大学院脳科学専攻
神経病態講座・神経内科学
- 6) 大阪大学大学院医学系研究科
D3生体統合医学精神医学科
- 7) 三重大学医学部附属病院神経内科
- 8) 金沢大学医学部医学科神経内科学講座
- 9) 新潟大学脳研究所
- 10) 岡山大学医学部・神経精神学教室
- 11) 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
脳神経機能病態学（神経内科学）
- 12) 神奈川県総合リハビリテーションセンター
- 13) 横浜市立大学医学部・神経内科
- 14) 東北大学大学院医学系研究科・病態神経学分野

【11:15~11:30】 8. クロイツフェルト・ヤコブ病の臨床像
： 第一回サーベイランス成績

演者名 佐藤 猛¹
共同演者 中村 好一² 北本 哲之³ 新井 公人⁴ 岡田 真一⁵
(その他サーベイランス委員)

- 1) 国立精神神経センター・国府台病院
- 2) 自治医科大学・公衆衛生
- 3) 東北大学大学院医学系研究科・病態神経学分野
- 4) 千葉大学・神経内科
- 5) 千葉大学・精神科

【11:30~11:45】 9. KO マウスおよびニワトリを用いた
PrP 特異的モノクローナル抗体の作成

演者名 中村 尚登¹
共同演者 朱山 亜希¹ 青木 悠里¹ 堀内 浩幸¹
古澤 修一¹ 松田 治男¹ 毛利 資郎² 村本 環³
北本 哲之³

- 1) 広島大学・生物生産・免疫生物
- 2) 九州大学大学院医学系研究科・実験動物学講座
- 3) 東北大学大学院医学系研究科・病態神経学分野

【11:45~12:00】 10. 可溶性プリオン蛋白に対する
モノクローナル抗体の作製

演者名 田中 智之¹
共同演者 北元 憲利² 村本 環³ 北本 哲之³ 毛利 資郎⁴

- 1) 堺市衛生研究所
- 2) 姫路工業大学・環境人間学部
- 3) 東北大学大学院医学系研究科・病態神経学分野
- 4) 九州大学大学院医学系研究科・実験動物学講座

***** 12:00 午前の部終了 *****

***** 12:00 ~ 12:50 昼食・休憩 *****

〈 午後の部 〉

◆ 挨拶 12:50 ~ 13:00 厚生省保健医療局エイズ疾病対策課

◆ 研究発表 13:00 ~ 15:10 座 長 北本 哲之

【13:00~13:20】 11. (1)プリオン不活化剤の検討

演者名 品川 森一¹
共同演者 堀内 基宏² 石黒 直隆¹ 山本 真理¹

(2)日本に存在する羊スクレイピー病原体の多様性

演者名 堀内 基宏²
共同演者 品川 森一¹ 石黒 直隆¹
ゴンボジャフ・アルゲンテレル¹
根本 卓弥¹ 古岡 秀文³ 平井 結花³
北本 哲之⁴ 毛利 資郎⁵

- 1) 帯広畜産大学獣医公衆衛生学
- 2) 帯広畜産大学原虫病研究センター・
獣医公衆衛生学
- 3) 帯広畜産大学家畜病理学
- 4) 東北大学大学院医学系研究科・病態神経学分野
- 5) 九州大学大学院医学系研究科・実験動物学講座

【13:20~13:35】 12. 正常型プリオン蛋白質 (PrP^c) を分解するプロテアーゼの検索と、プリオン病の病態解明に向けた基礎研究

演者名 桜井 総子¹
共同演者 金子 清俊¹

- 1) 国立精神神経センター神経研究所・
疫学研究第七部

【13:35~13:50】 13. ライソゾームにおける異常型プリオン蛋白の蓄積・分解に関する研究

演者名 堂浦 克美¹
共同演者 古川 ひさ子¹ 岩城 徹¹

- 1) 九州大学大学院医学系研究科
脳神経病研究施設・病理部門

【13:50~14:05】 14. プリオン蛋白類似蛋白 (PrPLP/Dpl) とプリオン感染実験

演者名 坂口 未廣¹
共同演者 新 竜一郎² 重松 和人³ 片峰 茂¹

- 1) 長崎大学大学院医学研究科・感染分子病態学
- 2) 長崎大学医学部細菌学
- 3) 長崎大学医学部病理学

【14:05~14:20】 15. 遺伝性プリオン病のマウスへの伝播実験

演者名 立石 潤¹
共同演者 毛利 資郎² 北本 哲之³

- 1) 老人保健施設・春風
- 2) 九州大学大学院医学系研究科・実験動物学講座
- 3) 東北大学大学院医学系研究科・病態神経学分野

【14:20~14:35】 16. プリオン蛋白(PrP)遺伝子操作マウスの作製

演者名 三好 一郎¹
共同演者 毛利 資郎² 北本 哲之³

- 1) 東北大学大学院医学系研究科・動物実験施設
- 2) 九州大学大学院医学系研究科・実験動物学講座
- 3) 東北大学大学院医学系研究科・病態神経学分野

【14:35~14:50】 17. ヒト PrP 遺伝子発現マウスのプリオン感受性試験
(その4)

演者名 毛利 資郎¹
共同演者 北本 哲之² 三好 一郎³ 中村 健司⁴

- 1) 九州大学大学院医学系研究科・実験動物学講座
- 2) 東北大学大学院医学系研究科・病態神経学分野
- 3) 東北大学大学院医学系研究科・動物実験施設
- 4) 東大医科研ヒト疾患高次機能

【14:50~15:10】 18. フラグメント・プリオン蛋白に関する研究

演者名 北本 哲之¹

- 1) 東北大学大学院医学系研究科・病態神経学分野

***** 15:10 ~ 15:30 総合討論 *****

◆重点課題中間報告	15:30 ~ 16:00	片峰 茂
◆閉会挨拶	16:00 ~ 16:15	北本 哲之
◆評価小委員会	16:15 ~ 17:00	

分担研究報告

JC ウイルス 遺伝子は血液中では細胞画分にも検出される

班 員：保井孝太郎（東京都神経科学総合研究所・微生物研究部門）

研究協力者：加藤 孝宣（東京都神経科学総合研究所・微生物研究部門）

〔研究要旨〕

JC ウイルスは、進行性多巣性白質脳症(PML)の病因ウイルスであるが、その発症機序については不明である。我々の研究から、JC ウイルスの初感染は大部分が 10 代中頃までに起こり、成人の感染率は 70 %を超える。JC ウイルスの感染を受けたヒトは、大部分が持続感染状態となり、断続的に尿中にウイルスを放出している。PML の発症は主として中高年令層に起こる。PML は遺伝子調節領域の変異した JC ウイルスが、オリゴデンドログリア細胞で増殖することによって起こると考えられるが、脳内への JC ウイルスの侵入機構は不明である。そこで JC ウイルスによるウイルス血症が、どのような形で起こっているかについて調査した。

JC ウイルスに持続感染している健常人では、高い頻度で JC ウイルスを尿中に排泄していると共に、ウイルス血症を起こしていた。血液中に抗体を保有しているかどうかに関わらず、血漿および血液細胞のどちらからも JC ウイルス遺伝子 DNA を検出できた。PML 患者の場合、脳細胞および CSF 細胞内に検出される JC ウイルスは、血液細胞内に検出される JC ウイルスとは、調節領域遺伝子のサイズが異なる場合があった。

以上の結果は、持続感染状態にあるヒトは、高い頻度で JC ウイルス血症を起こしており、JC ウイルスの中枢神経内侵入は、血液系細胞によって起こる可能性があることを示している。

Hematogenous cells of PML patients and healthy persons sometimes containing JC virus DNA

Kotaro YASUI, Takanobu KATOU

Department of Microbiology, Tokyo Metropolitan Institute for Neuroscience

ABSTRACT

About 70% Japanese adults had been infected with JC virus and many persons among them had fallen into persistent infection. PML is caused by JC virus replication in oligodendroglia cells in the brain. To analyze invasion mechanism of JC virus into the central nervous system, viremia of JC virus was examined on PML patients and healthy persons.

JC virus genome DNAs were detected in many urine and blood samples of healthy persons which fell into persistent infection with JC virus. JC virus DNA were detected not only in plasma fraction but also in hematogenous cells in samples with antiJC virus antibody. The results suggest that JC virus viremia occurs frequently on healthy persistent infecting persons and JC virus invade through hematogenous cells into the central nervous system.

In PML samples, we detected the regulatory region DNAs of JC virus in brain cells, CSF cells and hematogenous cells. The size of brain cells and CSF cells was different from that of hematogenous cells.

〔はじめに〕

JC ウイルスは、中長期的に脱髄が進行性に起こる疾患である進行性多巣性白質脳症(PML)の病因ウイルスであると考えられている。日本人の 70 %を越える成人に JC ウイルスの感染が認められ、¹⁾ その多くが持続感染状態にあり断続的に尿中に JC ウイルスを排出していると考えられているが、持続感染機構等は不明のままである。また PML 類似脳疾患に JC ウイルスの増殖が関与している可能性が予測されているが、確証は得られていない。PML の発症率は、通常 100 万人に数名と考えられているが、AIDS 患者では、数%と HIV 非感染者と比較してきわめて高率に PML が発症することが報告されている。したがって JC ウイルスは容易に脳内に侵入し、増殖することが予想される。しかし、JC ウイルスの中枢神経系内への侵入機構は不明である。

PML 患者脳内での JC ウイルスは、もっぱらオリゴデンドログリア細胞で増殖し、神経細胞では増殖しないと考えられている。我々は、JC ウイルスの遺伝子発現調節領域が、JC ウイルスの宿主域を決める要因の一部になっていることを明らかにした。²⁾ しかし、オリゴデンドログリア細胞と神経細胞での JC ウイルスの増殖性の違いを、その遺伝子発現調節領域の活性によって説明出来ていない。

JC ウイルスの有効な *in vitro* 増殖系は、ヒト脳初代培養細胞(PHFG)に限られている。また JC ウイルスを *in vitro* で培養すると、その遺伝子発現調節領域の構造が容易に変異することも明らかになっている。^{2, 3)} これらの点が、JC ウイルスのウイルス学的研究を遅らせ、持続感染と PML 発症機構の解明を困難にしている。

〔目的〕

JC ウイルスの中枢神経系内侵入の仕組みを明らかにして、PML 発症機構の解明を可能にするため、宿主の免疫状態と持続感染状態および、JC ウイルス感染によるウイルス血症が、どのような形で起こっているかについて調査した。

〔材料及び方法〕

1、検体からの DNA 抽出と PCR 法および JC 遺伝子の確認

検体 200ul から DNA を、QIAGEN DNA Kit (QIAamp DNA Blood Kit) を用いて抽出した。

抽出した DNA は、50ul の緩衝液に溶解し、その 2ul について JC ウイルス DNA の存在を *nested* PCR によって調査した。PCR 法に用いたプライマーは、以下の通りである。

VP1 Region:

FJCVPO; ACTGCCACAACAGTGTTGCTTG

FJCVPI; AGCTGTTGATGTTTGTGGCGTG

FJCVPI; TCCATGCCATACATAGGCTGCC

FJCVPO; GAAGCTCCTCTGTTCCCTCAAA

Regulatory Region:

FJCRR-o; ATTTCCCTGGCTCCTAAAAAG

FJCRR-i; CCTCCACGCCCTTACTACTTCT

FJCRR-o; AAAACAGCTCTGGCTCGCA

PCR 法によって増幅された DNA の内調節領域遺伝子については、アガロース電気泳動後 DNA をセルロース膜に転写して、Tokyo-1 株遺伝子調節領域を用いて作成した、³²P 標識プローブを用いたハイブリダイゼーション法によって確認した。

2、JC ウイルスに対する中和抗体の検出

健康人尿から分離した JC ウイルスを Cos7 細胞に感染させ培養すると、やがて JC ウイルスが増殖