

してくる。この系を用いて、JC ウイルスに対する中和抗体を測定した。4x10<sup>6</sup>PCR titer の JC ウイルスとヒトなどの血清を 37 度 C120 分反応させた後、Cos7 細胞に感染させ 2～3 日および 7～13 日培養後、JC ウイルス遺伝子を検出するプライマーを用いて JC ウイルスの増殖を調査して、検体血清中に JC ウイルスの感染増殖を抑制する中和抗体が存在するか否かを測定した。

なお一部検体については、すでに報告した偽ウイルスを用いて測定した。

#### 〔倫理面への配慮〕

今年度行ったこの研究については、動物実験は行っていない。また健常人検体については、JC ウイルスに対する抗体の測定および、遺伝子検出に用いることを説明し同意を得て用いた。

#### 〔結果及び考察〕

##### 1、健常人検体からの JC ウイルス遺伝子の検出

持続感染者の内、どのような確率で JC ウイルスが排泄されているかを調査した。女子は生理や妊娠などで JC ウイルスが活性化される確率が高いと考え、成人男子ボランティアから検体を採取した。検体採取の年齢は、59 才から 29 才であった。その結果は、表 1 に示す。健常人 6 名中抗体保有者は、5 名であった。この結果から抗体保有者 5 名は、JC ウイルスの感染を受けているものと判断した。

5 名の抗体保有者の内、尿、血液細胞、plasma のいずれかに JC ウイルス DNA が検出されたのは、4 名であった。この結果は JC ウイルス持続感染者は、極めて高率にウイルスを排出していることを示すものである。尿中から検出されたのは 3 名、血液細胞から検出されたのは 3 名、plasma から検出されたのは 2 名であり、血液中に検出されたのは 4 名であった。したがってこの結果から持続感染者は、高率に JC ウイルス血症を起こしていると考えられる。

血液細胞内に JC ウイルス DNA が検出される検体が多かった。この結果から、ウイルス血症は細胞性にも起っているとも考えられる。しかし血清にはいずれも抗体が検出されていることから、抗体と結合した JC ウイルスが、宿主のクリアランス機構により血液細胞内に取り込まれ処理された結果とも考えられる。抗体保有者の plasma 中の JC ウイルスおよび血液細胞内の JC ウイルスが、増殖活性を保有しているかどうかを調査する必要がある。

##### 2、PML 患者検体からの JC ウイルス遺伝子の検出

PML 患者 CSF と血液細胞、および患者死亡後の剖検脳細胞から JC ウイルス遺伝子 DNA が検出された。患者生存中に PML と判断し、治療方針に役立てるためには、CSF 中に JC ウイルス DNA を検出することが一助となると考えられる。

PML 患者の CSF および脳細胞から検出された JC ウイルス遺伝子調節領域 DNA は、血液細胞から検出された調節領域 DNA と比較して、そのサイズが異なっていた。PML は、持続感染状態にある JC ウイルスの遺伝子調節領域に変異が起こり、変異 JC ウイルスが、オリゴデンドログリア細胞で増殖できるようになったため発病すると考えられている。この結果は、持続感染者は断続的にウイルス血症を起こしており、そのうちのオリゴデンドログリア細胞で増殖できるようになった変異ウイルスが、脳内に侵入して PML を発症させる可能性を示唆している。脳細胞や CSF 中に検出される JC ウイルス遺伝子調節領域と、血液細胞中に検出される調節領域を解析する必要がある。

#### 〔結論〕

1、JC ウイルス持続感染者は、極めて高率に JC ウイルス血症を起こしている。2、ウイルス血症は、血液細胞性にも起こっており、中和抗体存在下では、JC ウイルスに感染した血液細胞によって脳内に侵入する可能性がある。

[文献]

- 1) 益子仁、中村健、篠崎正彦、荒木和子、藤井良知、保井孝太郎、荻原博：JC ウイルスの血清疫学的研究-1 東京地方における年齢別抗体保有状況ならびに地域抗体保有状況について. 帝京医学雑誌. 5:299, 1982
- 2) Shinohara, T., Matsuda, M., Yasui, K., Yoshiike, K., : Host range bias of the JC virus mutant enhancer with DNA rearrangement. *Virology*. 170: 261-263 , 1989
- 3) Matsuda, M., Jona, M., Yasui, K., Nagashima, K.,: Genetic characterization of JC virus Tokyo 1 strain, a variant oncogenic in rodents. *Virus Res*. 7: 159-168 , 1987
- 4) Shishido, Y., Nukuzuma, S., Mukaigawa, J., Morikawa, S., Yasui, K., Nagashima, K.,: Assembly of JC virus like particle in Cos 7 cells. *J. Med. Virol*. 51: 265-272 , 1997
- 5) Shishido-Hara, Y., Hara, Y., Larson, T., Yasui, K., Nagashima, K., Stoner, G.L.,:Analysis of capsid formation of human polyomavirus JC (Tokyo-1 strain) by a eukariotic expression system: Splicing of late RNAs, translation and nuclear transport of major capsid protein VP1, and capsid assembly. *J. Virol*. 74, 1840-1853, 2000

[研究発表]

1. 論文発表

- 1) Shishido-Hara, Y., Hara, Y., Larson, T., Yasui, K., Nagashima, K., Stoner, G.L.,:Analysis of capsid formation of human polyomavirus JC (Tokyo-1 strain) by a eukariotic expression system: Splicing of late RNAs, translation and nuclear transport of major capsid protein VP1, and capsid assembly. *J. Virol*. 74, 1840-1853, 2000
- 2) 保井孝太郎：DNA のワクチン． *Bio Clinica*, 15, 524-528 , 2000

表 1 健常人男性検体からの JC ウイルス遺伝子 DNA の検出

Person	Plasma	Blood Cell	Urine	Antibody in Sera
1	-	-	-	-
2	-	-	-	+
3	-	+	-	+
4	-	+	+	+
5	+	-	+	+
6	+	+	+	+

## 種々の cell line を用いた JCV の entry に関する研究

班 員：長嶋 和郎 (北海道大学・医・分子細胞病理)  
研究協力者：鈴木 聡子 (北海道大学・医・分子細胞病理)  
：駒込 理佳 (北海道大学・医・分子細胞病理)  
：山田 美里 (北海道大学・医・分子細胞病理)  
：澤 洋文 (北海道大学・医・分子細胞病理)

### 【研究要旨】

JC virus (JCV)は *in vivo*, *in vitro* において、その感染可能な組織・細胞は極めて限定されている。本研究において我々は JCV の細胞への感染の成立機構を明らかにするために、感染の第一段階である細胞への吸着・侵入の解析を semi-quantitative PCR 法を用いた JCV entry assay により行なった。その結果、マウスの細胞株を含む全 15 種の細胞株において JCV の細胞への吸着・侵入が認められた。また entry assay および *in situ* hybridization 法により JCV 感染後 10 分で細胞質および核内で JCV genome が virion の形で存在する事が明らかとなった。次に FITC 標識 JCV VP-1 偽粒子を作成し、細胞に吸着させ経時的に共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ同様に核内に FITC のシグナルが検出された。さらに抗 VP1 抗体、chlorpromazine は JCV の細胞内への侵入を抑制した。しかしながら JCV の増殖は 15 種類の細胞のうち IMR-32 細胞でのみ認められ、感染後長期にわたり JCV の複製が起こっている事が明らかとなった。

以上の結果より、JCV は多くの細胞に ubiquitous に発現している receptor と VP1 を介して種々の細胞に吸着・侵入し、clathrin pathway で細胞内移送を行い、核に達していることが判明した。従って JCV の宿主域を規定しているのは核内因子であることが推測された。

### Ubiquitous distribution of the JC virus receptor contrasts with a marked cellular restriction of virus replication

Kazuo Nagashima, Satoko Suzuki, Rika Komagome, Misato Yamada, Hirofumi Sawa

Laboratory of Molecular & Cellular Pathology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo, Japan

### ABSTRACT

To investigate the mechanisms of cellular entry and replication of JCV we have analyzed the viral entry to 15 different cell lines to infection using a semi-quantitative polymerase chain reaction (PCR) assay, *in situ* hybridization, laser scanning confocal microscopy and a viral replication assay. The cell lines examined were human permissive and non-permissive cells as well as monkey and mouse strains. JCV entry into the nuclei of the all cell lines was observed within 10 min after inoculation, demonstrating that the virus receptor is widely distributed among mammalian cells. Inhibition of viral entry by an anti-JCV VP1 antibody suggested that VP1 may interact with the cellular receptor. In addition, chlorpromazine, a clathrin-dependent pathway inhibitor, significantly suppressed entry of JCV into nuclei. In spite of the broad spectrum of cells for JCV entry, replication of the virus occurred exclusively in human neuroblastoma cell lines. These results suggest that whereas JCV can enter a wide variety of cell types and localize to the nuclei, cell-specific intranuclear mechanisms are required for replication.

## 〔はじめに〕

JC virus (JCV)はパポウイルス科・ポリオーマウイルス亜科に属するエンベロープを有しない二本鎖環状 DNA を有するウイルスである。JCV はこれまで動物への感染は報告されておらず *in vivo* ではヒトにのみ感染が確認されている。また JCV は臓器特異性も有している事が報告されており、進行性多巣性白質脳症 (Progressive multifocal leukoencephalopathy: PML)においては脳のオリゴデンドロサイトが主要な JCV の複製場所であり、また健常人において尿中で JCV が検出されることから、腎・尿路系での潜伏感染が示唆されている。*in vitro* で JCV の感染成立が確認されている細胞として primary human fetal glial (PHFG)、human neuroblastoma cell line (IMR-32、SH-EP)、COS-7 細胞などが知られている。このように JCV は *in vivo*、*in vitro* で感染可能な組織、細胞は極めて限定されている。しかし最近、血球系、消化管等を含む種々の組織で JCV のゲノムが検出されており、生体内における JCV の存在場所は様々な臓器、細胞種に及ぶ事が推察されている。このことから JCV は本来、様々な組織、細胞に吸着・侵入は可能であると考えられ、その後の抗原発現、virion 産生は限定した組織、細胞における転写因子を含む核内因子に依存しているものと考えられる。

## 〔目的〕

我々は JCV の吸着・侵入における細胞膜因子が宿主因子を規定しているか否かを明らかにする為、15 種類の cell line を用いて entry assay を行なった。その測定方法として semi-quantitative PCR、*in situ* hybridization 法を行ない、また FITC 標識 JCV VP-1 偽粒子を作成し、細胞に吸着させ経時的に共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察を行なった。さらに細胞内での複製を感染後経時的に replication assay を行なう事により JCV の感染機構の解析を目的として本実験を行なった。

## 〔材料と方法〕

1) 細胞: human neuroblastoma cell line (IMR-32、SH-EP)、human oligodendrocyte cell line (OL)、human glioblastoma cell line (U-138MG、U-87MG)、human kidney cell line (HEK293、293T)、lung carcinoma cell line (A-549)、hepatoblastoma cell line (Hep G2)、cervix carcinoma cell line (HeLa)、colon carcinoma cell line (SW-480)、melanoma cell line (MeWo)、African green monkey kidney cell line (CV-1、COS-7)、mouse neuronal and amoeboid stem cells (Neuro-2a)、mouse neuroblastoma cell line (NIE-115) を用いた。これらの細胞は 10%FCS 添加 DMEM にて維持した。

2) ウイルス感染: 対数増殖期の細胞をウイルス吸着前日に 60 mm 径の dish に  $1-1.5 \times 10^6$  個で捲き込み、一晚培養後実験に用いた。ウイルス吸着は 5% の FCS を含む 2 ml の DMEM に JCI 細胞(1)由来ウイルス液を 40 HA 添加し、これを 60 mm 径 dish 中の細胞に加え 37°C で 0、10、30、60 分 incubate した後に以下の方法で DNA を単離した。

3) DNA 抽出および semi-quantitative PCR (JCV entry assay) 法: ウイルス吸着後の細胞は PBS で洗浄後、余剰の吸着ウイルスを除く為に 0.25% Trypsin-EDTA で処理し、遠心後、PBS で 6 回の洗浄を行った。洗浄後、細胞は核抽出 buffer (10mM HEPES、10mM KCl、0.1mM EDTA、0.5% Nonidet P-40) で処理し、低速で遠心後沈澱と上清に分け、前者を核画分、後者を細胞質画分とした。核画分はさらに核抽出 buffer で洗浄後、Proteinase K を含む DNA 抽出 buffer (10mM Tris-HCl、50mM KCl、2.5mM MgCl<sub>2</sub>、0.5% Nonidet P-40、0.5% Tween-20) に懸濁し、56°C で incubation した。その後、フェノール/クロロホルム抽出、エタノール沈澱を行い、DNA を精製した。PCR は 250 ng の DNA を用いて行った。JCV の検出は報告されている primer sets を用い T 抗原領域、VP1 領域を PCR で増幅した(2)。T 抗原領域は TC1・TC2 (nucleotides: 2,578-2,600 and 2,776-2,797)、VP-1 抗原領域は VP2 及び VP3 (nucleotides: 1,828-1,848 and 2,019-2,039) を用い(3)、0.5U の Ex Taq、200μM dNTP、プライマーを各 0.5μM を含む 20 μl の溶液中で反応を行った。PCR の条件は 95°C で 5 分間の denature 後、94°C 30 sec、55°C 30 sec、72°C 30sec を 30 サイクル行い、final extension は 72°C で 7 分間行った。Negative control として非感染細胞の DNA、DNA を含まない反応液を用いた。また internal control として、核画分は β-globin(4; 5)、細胞質画分の control としてミトコンドリア DNA にコードされる遺伝子の

チトクローム酸化酵素 I (COI)領域にプライマーを設定し(6)増幅を行った。 $\beta$ -globin の増幅は 95°C で 5 分間の denature 後、94°C 30 sec、55°C 30 sec、72°C 30 sec を 30 サイクル行い、final extension を 72°C で 7 分間行った。また COI は 95°C で 5 分間の denature を行った後、94°C 30 sec、53°C 30 sec、72°C 30 sec を 25 サイクル行い、final extension を 72°C で 7 分間行った。Positive control としてまた本 assay の感度を判定する為に段階希釈した JCV Mad1 genome を含む plasmid pMad1、および JCV を用いた。今回行った PCR の反応は全反応、positive & negative control を同時に行った。尚、細胞の最終洗浄液から JCV genome は検出されていない (data not shown)。さらに本 JCV entry assay 法が、JCV の capsid protein VP1 による特異的な吸着・侵入を検出していることを明らかにするために、抗 VP-1 抗体の細胞への吸着の影響、および JCV は吸着後 clathrin pathway を介して細胞内を輸送されているという報告が有るので clathrin pathway inhibitor である chlorpromazine の影響を検討した。さらに JCV 感染後 2 ヶ月間 (1、10、20、30、40、60 日後) の JCV genome の維持を検討した。

4) DNase I sensitivity assay: 対数増殖期の細胞をウイルス吸着前日に 60 mm dish に  $1-1.5 \times 10^6$  個を巻き込み、これを用いた。ウイルス吸着は JCI 由来ウイルス液を 40 HA を添加し、これを 60 mm dish 中の細胞に添加し 37°C で 30 分吸着させ、ウイルス液を除去し、PBS で細胞を wash 後、上記同様に細胞を回収し洗浄した。その後、細胞は 2 等分し、それぞれを核抽出 buffer で処理後、核画分と細胞質画分に分けた。核画分は 100  $\mu$ l の DNA 抽出 buffer を加えた。それぞれの画分には DNase I 添加あるいは非添加で 37°C で 40 時間の incubation を行った。また、DNase I が各 sample において活性が有ることを確認するために pBRMad1 を control として、さらに virus particle を 1mM DTT で disrupt して同様の条件で操作を行なった。その後、これらの反応液を 10 分間 boiling し、フェノール/クロロホルム抽出、エタノール沈殿を行い、DNA を精製した。その後、PCR を行った。

5) *In situ* hybridization (ISH)法: JCV entry assay 法で得られた結果を確認するために JCV genome を ISH にて検索した。JCV genome の T 抗原の一部 (nucleotides 3,360-4,308) を pBluescript SKII+へ subcloning し、制限酵素で消化した後エタノール沈殿で精製して linearized template を作製した。その後 T3、T7 RNA polymerase、DIG RNA labeling mixture を混合した後、tRNA、RNase free DNase を加え、37°C で 10 分反応させ、エタノール沈殿を施行し、25  $\mu$ l の DEPC/DW に溶解した。以上の操作で作製した RNA probe を用いて ISH を施行した。細胞は 8-well multitest slides に前日に  $1-1.5 \times 10^4$  個を巻き込み、翌日 500 HA の JCV を吸着させ 0、10 分後に 4% paraformaldehyde で固定を行なった後、無水酢酸、0.1 M TEA による acetylation、0.2 M HCl で 10 分間反応した後、prehybridization (50% formamide、5 x SSC、5 x Denhardt's solution、500  $\mu$ g/ml tRNA) を室温で 2 時間以上行った。その後、denature した DIG-labeled RNA probe を 200 ng/ml 含んだ hybridization buffer にて 70°C で over night incubation した。翌日、切片を洗浄した後、抗 DIG 抗体を反応させ、NBT、X-phosphate にて発色させ観察した。

6) Virus like particle (VLP)の作製: recombinant VP1 を用いた VLP の作製は以前報告されている方法を改良して行なった(7)。JCV VP1 を PCR で増幅後、大腸菌発現 vector pPET15b に導入し (pPET15b-VP1)、これを *E. coli* BL21(DE3)pLys に導入した。この *E. coli* を 37°C 1 晩培養して、その後、IPTG を添加し、さらに培養を行った。菌体回収後 lysozyme (1mg/ml) を添加し、デオキシコル酸 (0.2%) を加え超音波破碎を行った。lysate に DNase I (100U/ml) を添加し反応後遠心を行い、上清を回収した。これを 35K で 1 時間超遠心を行い、沈殿を再度懸濁し再度超遠心を行い不溶物を除去した。その後、12K で 1 晩遠心を行い、得られた沈殿を VP1 偽粒子とした。粒子形成に関しては電子顕微鏡による形態観察、免疫電顕法による抗原の維持を確認した上 HA 活性を測定して実験に用いた。

7) VLP による吸着実験: ウイルス吸着前日に 18 x 18 mm の cover slip 上に細胞を付着させて培養し、この細胞に 3,000 HA の FITC 標識 VLP を 1mL の DMEM で 4°C で 2 時間吸着させた。その後、37°C に細胞を移し、2 時間 incubation した。PBS で洗浄後 2.5% paraformaldehyde で 15 分間固定し 90% グリセロールで封入した後共焦点レーザー顕微鏡で観察を行った。また同時に、clathrin pathway で細胞内を移送されている事が報告されている Texas Red 標識 transferrin (25  $\mu$ g/ml) を吸着させ、局在の比較を行った。さらに chlorpromazine の影響も検討した。

8) Replication assay:最初に assay の感度を判定する為に段階希釈した JCV Mad1 genome を含む plasmid pMad1 を 1.0 µg の low-molecular weight DNA と混ぜたものを用いて assay を行なった。細胞は 60 mm dish に前日に撻き込んだものを用いた。40 HA の JCV を感染させ、2 時間、10、20、30、40 日後の細胞から Hirt 法により(8)low-molecular weight DNA を回収して、遠心後 0.5 mg/ml proteinase K で 56°C、1 時間処理してフェノール/クロロフォルム抽出、エタノール沈澱を行い、DNA を精製した。その後 Bam HI で消化した DNA を 1% agarose gel に泳動し nylon membrane に transfer した後、alkaline phosphatase で label した JCV VP1 領域を probe として Southern blotting を行ない、AlkPhos Direct Labeling and Detection System (Amersham)にて signal を検出した。control としては pMad1、JCV 感染細胞である JCI 細胞、JCI 細胞の親株である非感染細胞 IMR-32 細胞から Hirt 法にて抽出した low-molecular-weight DNA を酵素処理した物、および酵素処理しなかった物を用いた。

#### (倫理面の配慮)

本研究では、JCV の感染機構の解析を目的とした。本実験で用いられた JCV は P2 で扱うべきウイルスであり、本研究は当研究室の P2 指定実験室にて安全性に留意して行なわれた。また本実験で用いた大腸菌の系については人体に対する安全性は認められており、北海道大学の組換え DNA 申請においても承認を得ている。

#### 【結 果】

1) JCV entry assay (semi-quantitative PCR):human、monkey、mouse から樹立された種々の臓器由来の細胞を用い、JCV の吸着・侵入の機構を semi-quantitative PCR 法により検討を行い以下の結果を得た。

a) 段階希釈した JCV および JCV Mad1 genome を含む plasmid pMad1 を用いた結果から本 assay の感度は JCV 自体では 0.001 HAU また JCV DNA に換算すると  $10^3$  copies であった (Fig. 1B)。

b) 今回解析を行った全 15 種類の細胞株さらには昆虫細胞において、JCV の細胞への吸着後 10 分以内に細胞内で JCV genome を検出した。また吸着 10-60 分に至るまで、検出された JCV genome は増加傾向を示した (Fig. 1A)。JCV genome は吸着後 10 分以内に核内から検出され、その後時間依存性に増加していた (Fig. 1C)。

c) DNase I を用いた結果から本 assay で検出している JCV genome は virion 内に packaging されていることが判明した (Fig. 2)。

d) 抗 JCV VP1 抗体さらに clathrin pathway inhibitor である chlorpromazine により JCV genome は細胞内から検出できなくなり、JCV は VP1 を介して細胞への吸着・侵入を行ない、また細胞内では clathrin pathway を介して輸送されていることが判明した (Fig. 3)。

e) 本 assay を用いて JCV 感染後長期間での JCV genome の維持について検討を行なった。感染後 1 日目では検索した 15 種類の細胞全てで JCV genome が検出できた (Table 1)。さらに、IMR-32、293T、COS-7、U-138MG 細胞では感染後 60 日目でも JCV genome は detect できた。

2) *In situ* hybridization (ISH)法:JCV 感染後 10 分において JCV genome が核および細胞質で検出でき、JCV entry assay で得られた結果と一致していた (Fig. 4)。

3) JCV VLP による吸着実験:JCV capsid protein VP1 により作製した VLP を用いて行なった吸着実験から以下の結果が得られた。

a) 吸着を 4°C のみで行った場合は細胞膜上に蛍光が強く観察されたのに対し、その後 37°C にて incubation を行った場合、膜上に強く認められた蛍光のシグナルは不鮮明となり、ドット状のシグナルが細胞膜から細胞内 (特に核周辺に強く)、さらに核内に認められた。これらの現象は時間経過と共に強く認められる傾向にあった (Fig. 5)。

b) JCV entry assay で JCV の吸着・侵入の抑制効果が有った chlorpromazine および抗 JCV VP1 抗体の効果を VLP を用いた系でも確認した。chlorpromazine は transferrin 同様に JCV VLP の細胞内輸送を抑制した。また抗 VP1 抗体は細胞膜への VLP の吸着を阻害した (Fig. 6)。

4) Replication assay 法:感染後の JCV genome の長期維持に関する機序を明らかにする為に感染後の JCV replication の効率を検索した。

a) 段階希釈した JCV Mad1 genome を含む plasmid pMad1 を用いた結果から本 assay の感度は JCV DNA に換算すると  $1.0 \times 10^7$  copies であった (Fig. 7)。

b) 感染後 2 時間では感染に用いた JCV 由来と考えられる弱い signal が認められた。感染後 10 日では replication は IMR-32、293T、COS-7 細胞では認められたが U-138 MG 細胞では認められなかった。しかし 20 日以降は IMR-32 細胞では増加していたが 293T、COS-7 細胞では signal は認められなかった (Fig. 7)。また他の 11 個の細胞では、感染後のいずれの時期においても JCV の replication は認められなかった。

#### 〔考 察〕

従来 JCV の感染性を規定する因子が細胞膜であるのか、核内に有るのかを明確に区別する手技が無かった。そこで今回我々は semi-quantitative PCR 法により JCV genome を検出する JCV entry assay 法を考案し、また in situ hybridization 法、FITC 標識 JCV VLP 等の方法で JCV の吸着・侵入の機構を検索した。その結果、種々の臓器由来の 15 種の細胞株、またラットの hepatocyte や human T cell line の Jurkat、昆虫細胞である High five 細胞にも JCV が吸着・侵入可能である事が明らかとなった。また JCV の細胞への吸着は抗 VP1 抗体および chlorpromazine により抑制されたことから、この現象が JCV の capsid protein である VP1 を介したものであり、また clathrin pathway を利用している事が判明した。

さらに JCV が感染後、ある程度の間は viral DNA が維持される細胞として 293T、COS-7、U-138 MG 細胞があった。しかしながら replication assay で長期的に replication が持続する細胞は IMR-32 細胞のみであることが判明した。JCV genome の維持と replication の継続の差異については一つには PCR 法と replication assay (Southern 法)の感度の差が考えられた。PCR 法は replication assay の約 1,000 倍 ( $1.0 \times 10^7$ :  $4.0 \times 10^3$ )の感度を有することが考えられた。また SV40 T 抗原は JCV の転写・複製を亢進させること、また human glial cell では JCV の転写が活性化することは報告されており、293T、COS-7 で JCV が長期にわたり維持されたことは HEK293、CV-1 との比較からも SV40 T 抗原が関与していると考えられた。さらに IMR-32 細胞で replication が長期に維持された理由としては、今回用いた virus が IMR-32 細胞を用いて樹立した感染細胞(JCI 細胞)から調整した細胞であり、virus 自体が IMR-32 細胞に適応している可能性が示唆された。

これまでに JCV の receptor に関する報告では、N-linked glycoprotein containing terminal  $\alpha(2-6)$ -linked sialic acids が SVG 細胞 (SV40T 発現 human fetal glia 細胞)における receptor であることが示されている(9)。本 assay においてもウイルス吸着前に細胞にシアリダーゼ処理を行ったが、COS-7 細胞において JCV 吸着・侵入量の減少がシアリダーゼ濃度依存的に認められた(data not shown)。我々も現在 JCV receptor の単離およびさらには JCV の感染を制御していると考えられる転写調節因子の単離を行なっている。

#### 〔結 論〕

JCV entry assay を用いて、JCV receptor が組織や種を超えて ubiquitous に存在することが判明した。JCV genome の維持と感染許容に関しては replication の違いによりさらに他の機構が関与していることが推測された。このことは JCV 感染による脱髄機構の解明に向かう新たな知見と考えられた。

#### 〔参考文献〕

- 1) Nukuzuma S., Yogo Y., Guo J., Nukuzuma C., Itoh S., Shinohara T. and Nagashima K.: Establishment and characterization of a carrier cell culture producing high titres of polyoma JC virus. J Med Virol. 47: 370-377, 1995.
- 2) Krynska B., Del Valle L., Croul S., Gordon J., Katsetos C.D., Carbone M., Giordano A. and Khalili K.: Detection of human neurotropic JC virus DNA sequence and expression of the viral oncogenic protein in pediatric medulloblastomas. Proc Natl Acad Sci U S A. 96: 11519-11524, 1999.
- 3) Frisque R.J., Bream G.L. and Cannella M.T.: Human polyomavirus JC virus genome. J Virol. 51: 458-469,



1984.

- 4) Kameoka M., Kimura T., Okada Y., Fujinaga K., Nakaya T., Takahashi H., Kishi M. and Ikuta K.: High susceptibility of U937-derived subclones to human immunodeficiency virus type 1 infection correlates with accumulation of unintegrated circular viral DNA. *Virus Genes*. 12: 117-129, 1996.
- 5) Suzuki S., Kameoka M., Nakaya T., Kimura T., Nishi N., Hirai K. and Ikuta K.: Superoxide generation by monocytes following infection with human cytomegalovirus. *Immunopharmacology*. 37: 185-190, 1997.
- 6) Wallace D.C., Stugard C., Murdock D., Schurr T. and Brown M.D.: Ancient mtDNA sequences in the human nuclear genome: a potential source of errors in identifying pathogenic mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 94: 14900-14905, 1997.
- 7) Ou W.C., Wang M., Fung C.Y., Tsai R.T., Chao P.C., Hseu T.H. and Chang D.: The major capsid protein, VP1, of human JC virus expressed in *Escherichia coli* is able to self-assemble into a capsid-like particle and deliver exogenous DNA into human kidney cells. *J Gen Virol*. 80: 39-46, 1999.
- 8) Hirt B.: Selective extraction of polyoma DNA from infected mouse cell cultures. *J Mol Biol*. 26: 365-369, 1967.
- 9) Liu C.K., Wei G. and Atwood W.J.: Infection of glial cells by the human polyomavirus JC is mediated by an N-linked glycoprotein containing terminal alpha(2-6)-linked sialic acids. *J Virol*. 72: 4643-4649, 1998.

#### 〔研究発表〕

##### 1. 論文発表

- 1) Okada Y., Sawa H., Tanaka S., Takada A., Suzuki S., Hasegawa H., Umemura T., Fujisawa J-i., Tanaka Y., Hall WW., Nagashima K.: Transcriptional activation of JC virus (JCV) by human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) tax protein in human neuronal cell lines. *J Biol Chem*. 275, 17016-17023, 2000
- 2) Shintaku M., Matsumoto R., Sawa H., Nagashima K.: Infection with JC virus and possible dysplastic ganglion-like transformation of the cerebral cortical neurons in a case of progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neuropathol Exp Neurol*. 59, 921-929, 2000
- 3) Suzuki S., Tobiume M., Kameoka M., Sato K., Takahashi T.A., Mukai T., Ikuta K.: Exposure of normal monocyte-derived dendritic cells to human immunodeficiency virus type-1 particles leads to the induction of apoptosis in co-cultured CD4+ as well as CD8+ T cells. *Microbiol Immunol* 44, 111-121, 2000
- 4) Shishido-H.Y., Hara Y., Larson T., Yasui K., Nagashima K., Stoner G.: Analysis of capsid formation of human polyomavirus JC (Tokyo-1 strain) by a eukaryotic expression system: splicing of late RNAs, translation and nuclear transport of major capsid protein VP1, and capsid assembly. *J Virol*. 74, 1840-1853, 2000
- 5) Furukawa H., Suzuki T., Jin M.B., Yamashita K., Taniguchi M., Magata S., Ishikawa H., Ogata K., Masuko H., Shimamura T., Fukai M., Hayashi T., Fujita M., Nagashima K., Omura T., Kishida A., Toda S. Prolongation of canine liver allograft survival by a novel immunosuppressant, FTY720. *Transplantation*. 69, 235-241, 2000
- 6) Kawano N., Ohba Y., Nagashima K.: Eosinophilic inclusions in ependymoma represent microlumina: a light and electron microscopic study. *Acta Neuropathol*. 99, 214-218, 2000
- 7) Fujita M., Furukawa H., Hattori M., Todo S., Ishida Y., Nagashima K.: Sequential observation of liver cell regeneration after massive hepatic necrosis in auxiliary partial orthotopic liver transplantation (APOLT). *Mod Pathol*. 13, 152-157, 2000
- 8) Nagashima T., Kato H., Kase M., Maguchi S., Mizutani Y., Matsuda K., Chuma T., Mano Y., Goto Y., Nonaka I., Nagashima K.: Oculopharyngeal muscular dystrophy in a Japanese family with a short GCG expansion (GCG)<sub>11</sub> in *PABP2* gene. *Neuromuscul Disord*. 10, 173-177, 2000
- 9) Yokota R., Fukai M., Shimamura T., Suzuki T., Watanabe Y., Nagashima K., Kishida A., Furukawa H.,

- Hayashi T., Todo S.: A novel hydroxyl radical scavenger, nicaraven, protects the liver from warm ischemia and reperfusion injury. *Surgery*. 127, 661-669, 2000
- 10) Nagashima T., Maguchi S., Terayama Y., Horimoto M., Nemoto M., Nunomura M., Mori M., Seki T., Matsukawa S., Itoh T., Nagashima K. P-ANCA-positive Wegener's granulomatosis presenting with hypertrophic pachymeningitis and multiple cranial neuropathies: Case report and review of literature. *Neuropathology*. 20, 23-30, 2000
  - 11) Nakamura N., Iwassaki Y., Hida K., Abe H., Fujioka Y., Nagashima K.: Dural band pathology in syringomyelia with Chiari type I malformation. *Neuropathology*. 20, 38-43, 2000
  - 12) Furuta Y., Ohtani F., Fukuda S., Inuyama Y., Nagashima K.: Reactivation of varicella-zoster virus in delayed facial palsy after dental treatment and oro-facial surgery. *J Med Virol*. 62, 42-45, 2000
  - 13) Yamashita S., Mochizuki N., Ohba Y., Tobiume M., Okada Y., Sawa H., Nagashima K., Matsuda M. CalDAG-GEFIII activation of Ras, R-Ras, and Rap1. *J Biol Chem*. 275, 25488-25493, 2000
  - 14) Ohba Y., Mochizuki N., Yamashita S., Chan A.M., Schrader J.W., Hattori S, Nagashima K., Matsuda M. Regulatory Proteins of R-Ras, TC21/R-Ras2, and M-Ras/R-Ras3. *J Biol Chem*. 275, 20020-20026, 2000
  - 15) Miyazaki H., Ono T., Okuma Y., Nagashima K., Nomura Y.: Glial cell line-derived neurotrophic factor modulates ischemia-induced tyrosine hydroxylase expression in rat hippocampus. *Eur J Neurosci*. 12, 2032-2038, 2000
  - 16) Hiroi Y., Chen R., Sawa H., Hosoda T., Kudoh S., Kobayashi Y., Aburatani H., Nagashima K., Nagai R., Yazaki Y., Medof M.E., Komuro I. Cloning of murine glycosyl phosphatidylinositol anchor attachment protein, GPAA1. *Am J Physiol Cell Physiol*. 279, C201-C212, 2000
  - 17) Ohba Y., Mochizuki N., Matsuo K., Yamashita S., Nakaya M., Hashimoto Y., Hamaguchi M., Kurata T., Nagashima K., Matsuda M. Rap2 as a slowly responding molecular switch in the Rap1 signaling cascade. *Mol Cell Biol*. 20, 6074-6083, 2000
  - 18) Nakazato Y., Nagashima K. Japanese contribution to neuropathology. Encephalomyelitis, brain tumors, neuromuscular diseases and miscellaneous disorders. *Neuropathology*. 20, S8-S13, 2000
  - 19) Takahashi H., Iwata T., Kitagawa Y., Shoya Y., Takahashi R.H., Nagashima K., Kurata T. Monoclonal antibodies against topoisomerase I suppressed DNA relaxation and HIV-1 cDNA synthesis. *Hybridoma*. 19, 331-334, 2000
  - 20) Suzuki T., Ogata A., Tashiro K., Nagashima K., Tamura M., Yasui K., Nishihara J. Japanese encephalitis virus up-regulated expression of macrophage migration inhibitory factor (MIF) mRNA in the mouse brain. *Biochim Biophys Acta*. 1517, 100-106, 2000
  - 21) Sato-Matsumura K.C., Matsumura T., Nakamura H., Sawa H., Nagashima K., Koizumi H. Membrane expression of annexin I is enhanced by calcium and TPA in cultured human keratinocytes. *Arch Dermatol Res*. 292, 496-499, 2000

## 2. 学会発表

- 1) Nagashima K., Sawa H., Orba Y., Endo S., Okada Y., Tanaka S.: Dendritic distribution of JC virus agnoprotein in PML brain. Scientific Session of American Association of Neuropathologists, 2000 in Atlanta, GA, USA
- 2) Nagashima K., Sawa H., Tanaka S., Matsuda M., Mochizuki N.: Signal transduction in the understanding of neuroglial proliferation and transformation. International Symposium and 45 th Meeting of the German Society for Neuropathology and Neuroanatomy, 2000 in Leipzig, Germany
- 3) Sawa H., Okada Y., Tanaka S., Orba Y., Endo S., Sasada M., Hara Y., Shintaku M., Nagashima K.: Expression of JC virus early and late proteins in various cell lines and PML brains. XIV International

Congress of Neuropathology, 2000 in Birmingham, UK

- 4) Yamamoto S., Takamaru Y., Morita N., Yasuda M., Okada Y., Sawa H., Nagashima K.: A case of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with prion deposition of both synaptic and plaque types: A new variant in Japan? XIV International Congress of Neuropathology, 2000 in Birmingham, UK
- 5) Ozaki Y., Sawa H., Okada Y., Tanaka S., Sawamura Y., Nakamura H., Nagashima K.: Investigation of JCV the genome and protein in human medulloblastomas. 2<sup>nd</sup> International Symposium of Brain Tumor Pathology, 2000 in Nagoya, Japan
- 6) Sawa H., Endo S., Okada Y., Orba Y., Tanaka S., Nagashima K.: Analysis of the function and subcellular localization of JC virus (JCV) agnoprotein (Agno). 3<sup>rd</sup> International Symposium on Neurovirology, 2000, CA, USA
- 7) Okada Y., Sawa H., Tanaka S., Takada A., Suzuki S., Hasegawa H., Hall W.W., Nagashima K.: Glial/neuronal specific activation of the JC virus (JCV) promoter in the presence of HTLV-I Tax. 3<sup>rd</sup> International Symposium on Neurovirology, 2000, CA, USA
- 8) 奴久妻 聡一、奴久妻 智代子、山田 美里、澤 洋文、長嶋 和郎: 持続感染細胞由来 JC ウイルスの遺伝子解析。近畿地区ウイルス疾患協議会研究会、2000年、神戸
- 9) 佐藤 真実、駒込 理佳、山田 美里、岡田 由紀、田中 伸哉、澤 洋文、長嶋 和郎: JC virus (JCV) VP1 偽ウイルス粒子の免疫ネガティブ染色法による証明。日本電子顕微鏡学会北海道支部学術講演会、2000年、札幌
- 10) 岡田 由紀、遠藤 秀一、原 由紀子、大場 靖子、駒込 理佳、田中 伸哉、澤 洋文、長嶋 和郎: JC virus 構成蛋白の発現と機能に関する研究。第 41 回 日本神経病理学会総会学術研究会、2000年、米子
- 11) 駒込 理佳、山田 美里、鈴木 聡子、岡田 由紀、佐藤 真実、西原 広史、田中 伸哉、澤 洋文、長嶋 和郎: pseudovirus を用いた JC virus (JCV) の細胞接着に関する研究。第 48 回 日本ウイルス学会、2000年、津
- 12) 岡田 由紀、遠藤 秀一、大場 靖子、川瀬 義明、西原 広史、田中 伸哉、澤 洋文、長嶋 和郎: JC virus agnoprotein に関する研究。第 48 回 日本ウイルス学会、2000年、津
- 13) 鈴木 聡子、駒込 理佳、山田 美里、岡田 由紀、田中 伸哉、西原 広史、澤 洋文、長嶋 和郎: JC virus の細胞への吸着及び侵入に関する検討。第 80 回 北海道医学大会病理分科会、2000年、札幌
- 14) 山田 美里、駒込 理佳、鈴木 康夫、鈴木 隆、澤 洋文、長嶋 和郎: JC virus (JCV) の細胞接着に関する研究。第 4 回神経ウイルス研究会・第 5 回神経感染症研究会 合同学術集会、2000年、仙台
- 15) 岡田 由紀、澤 洋文、遠藤 秀一、大場 靖子、駒込 理佳、西原 広史、田中 伸哉、長嶋 和郎: JC virus agnoprotein に関する研究。第 36 回日本ウイルス学会北海道支部総会、2000年、札幌

#### 〔知的所有権の取得状況〕

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

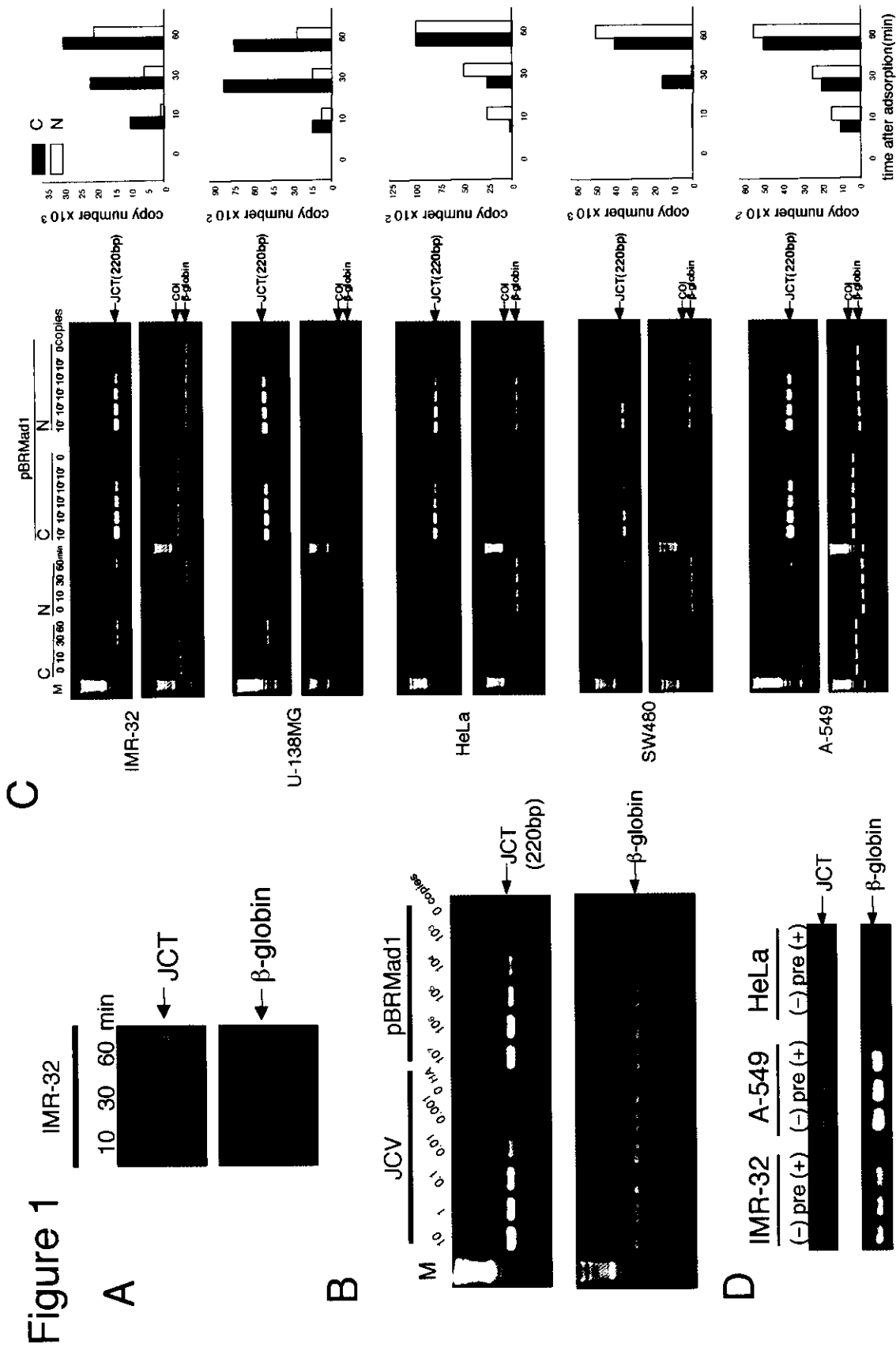


Figure 1. Semi-quantitative PCR assay (JCV entry assay)法。A: 40HAのJCVを感染後各時間(10, 30, 60分)でIMR32細胞から抽出したDNAを用いたentry assay。下段はinternal controlの $\beta$  globin。B: 段階希釈したJCVおよびJCV DNAを含むplasmidを用いて本assayの感度を測定。C: 各細胞(代表例のみ提示)に40HAのJCV感染後0, 10, 30, 60分後細胞質・核分画からDNAを抽出して施行したentry assay。同時にplasmid DNAもPCRを行ないcopy numberを算出してグラフとして右側に提示。D: JCV entryがVP1 specificであることを示す為に抗VP1抗体をJCVとincubationした後にentry assay施行。抗VP1抗体処理後はJCVのgenomeが検出できなくなる。

Fig. 2A

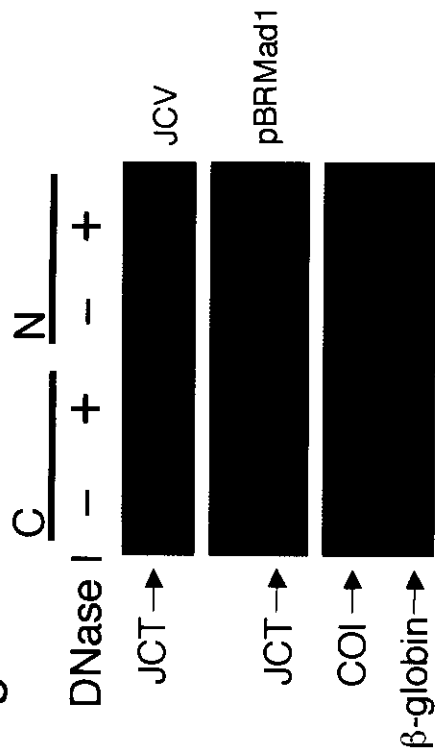


Fig. 2B

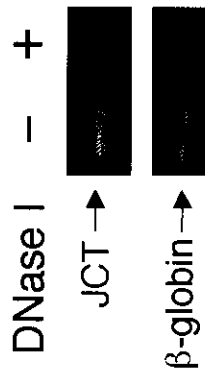


Fig. 2C

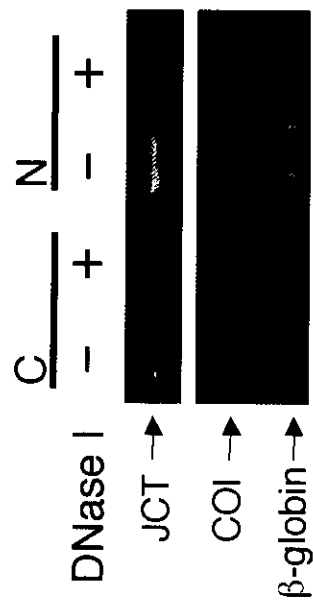


Fig. 3

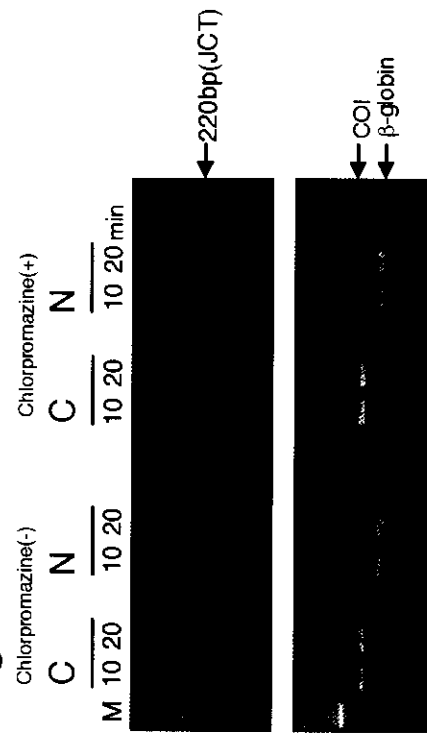


Fig. 2: JCV entry assayで得られたsignalがvirionにcapsulateされているviral DNAに由来することを確認する為にDNase I treatmentを行なった。A: 感染に用いたJCVとJCV DNAを含むplasmidをそれぞれIMR-32から調整した細胞質・核分画由来のDNAと混ぜてDNase I反応後PCRを行なった。virionにcapsulateされているJCV DNAはDNase I resistantであることが判明。B: JCV virionを1mM DTT下でdisruptしてDNase I処理を行なった。virion disruptによりJCV DNAはDNase I resistantになった。C: 実際にIMR-32細胞にJCVを感染させ、30分後に細胞質・核分画由来のDNAを調整しJCV entry assayを施行。JCV感染後のsignalはDNase I resistantであり、JCVはvirionにcapsulateされていることが判明した。

Fig. 4

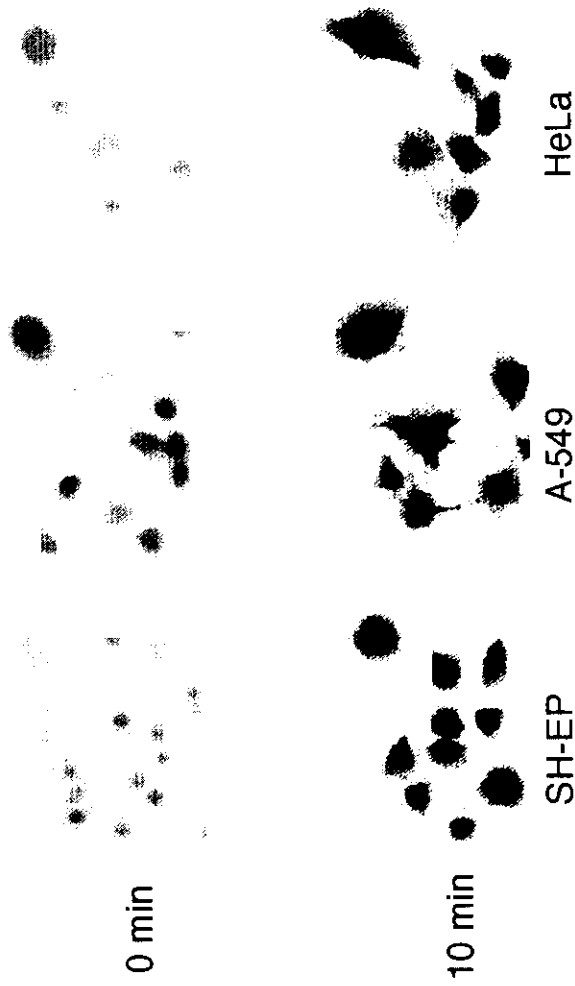


Fig. 4: SH-EP (JCウイルス許容細胞)、A-549、HeLa細胞 (JCウイルス非許容細胞)にJCウイルスを感染させ0、10分後に固定し*in situ* hybridization法にてJCウイルス genomeを可視化。全ての細胞で細胞質および核にJCウイルス genomeが確認。JCウイルス genomeは黒い grainとして観察

Fig. 5

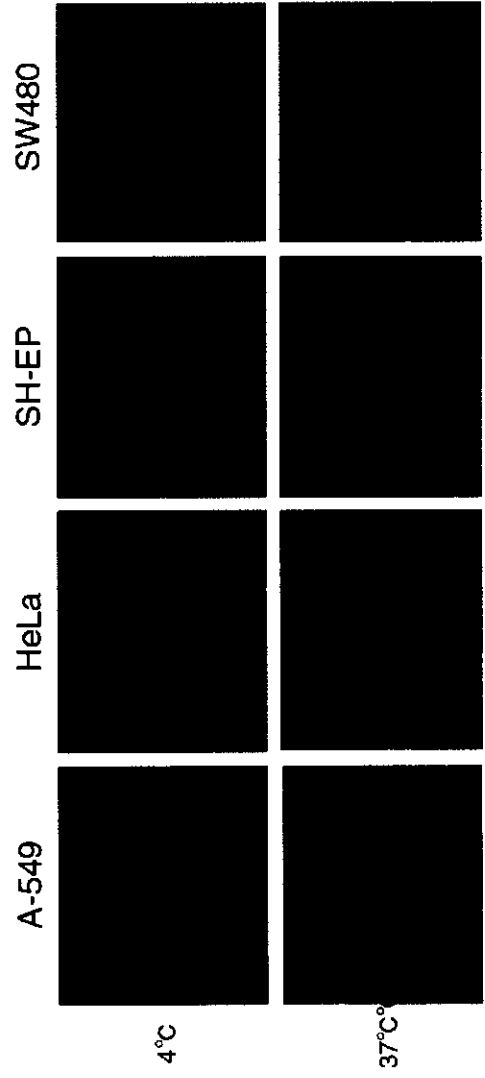


Fig. 5: SH-EP (JCウイルス許容細胞)、A-549、HeLa、SW480細胞 (JCウイルス非許容細胞)にFITCで標識したJCウイルス virus-like particle (VLP)をincubate。4°CではJCウイルス VLPは細胞膜に局在しているが、37°Cでincubateすると細胞質および核内に移行する。

Fig. 5

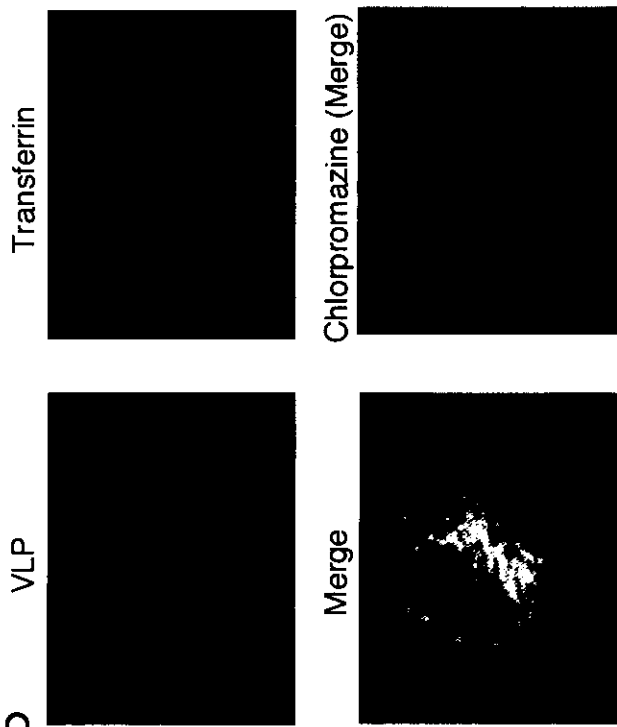


Fig. 5: A-549細胞にFITCで標識したJCV VLPおよびTexas Redで標識したtransferrinを37°Cでincubate。clathrin pathwayを介して細胞内輸送されるtransferrinとJCV VLPは局在が一致する。またchlorpromazine (clathrin pathway inhibitor)はJCV VLPおよびtransferrinの細胞内輸送を抑制する。

Fig. 6

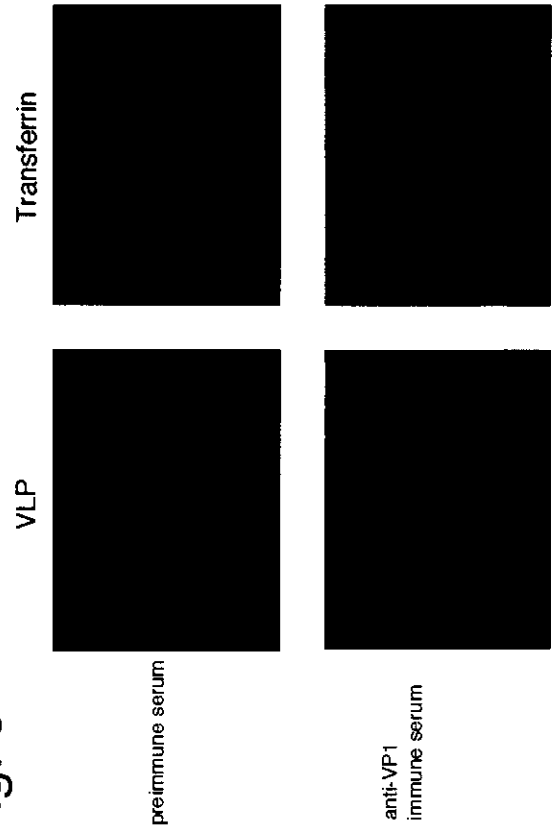


Fig. 6: A-549細胞にFITCで標識したJCV VLPおよびTexas Redで標識したtransferrinを37°Cでincubate。また抗VP1抗体はJCV VLPの細胞内輸送を抑制する、しかしtransferrinの輸送には影響を与えない。

Fig. 7

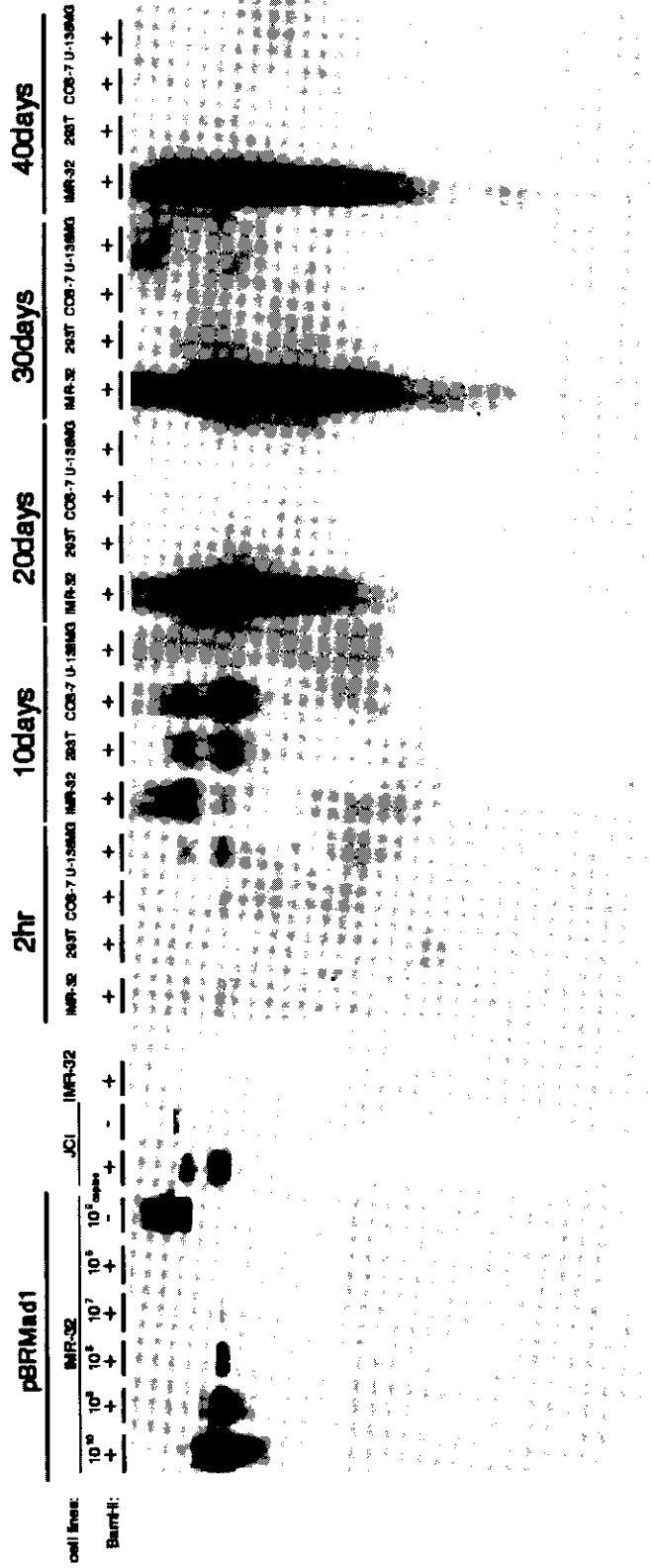


Fig. 7: JCV感染後のreplicationをSouthern blottingを用いて検索 (JCV replication assay)。本assayの感度は段階希釈したplasmidを用いて計測。さらにJCVを感染後2時間、10、20、30、40日でlow-molecular weight DNAをHirt法で抽出してBan-HIで切断後Southern blotting法を施行。20日以降はIMR-32細胞でのみsignalが検出。



Cell line	Origin	Region of amplification	Days					
			1	10	20	30	40	60
IMR-32	Human	T	+	+	+	+	+	+
		VP1	+	+	+	+	+	+
293T	Monkey	T	+	+	+	+	+	+
		VP1	+	+	+	+	+	+
HEK293	Monkey	T	+	-	-	-	-	-
		VP1	+	-	-	-	-	-
COS-7	Monkey	T	+	+	+	+	+	+
		VP1	+	+	+	+	NT <sup>b</sup>	+
CV-1	Monkey	T	+	+	-	-	-	-
		VP1	+	+	-	-	-	-
U-138MG	Human	T	+	+	+	+	NT	+
		VP1	+	+	+	+	+	+
U-87MG	Human	T	+	+	+	+	+	-
		VP1	+	+	+	+	+	-
OL	Human	T	+	+	+	+	-	-
		VP1	+	+	+	+	-	-
Hep G2	Human	T	+	+	NT	-	-	-
		VP1	+	+	-	-	-	-
MeWo	Human	T	+	+	+	NT	-	-
		VP1	+	+	+	-	-	-
A-549	Human	T	+	-	NT	NT	-	-
		VP1	+	-	-	-	-	-
HeLa	Human	T	+	+	-	-	-	-
		VP1	+	+	-	-	-	-
NIH-115	Mouse	T	+	-	-	-	-	-
		VP1	+	-	-	-	-	-
Neuro-2a	Mouse	T	+	+	-	-	-	-
		VP1	+	+	-	-	-	-
SW480	Human	T	+	+	+	NT	-	-
		VP1	+	+	+	-	-	-

Table 1: 全15種類の細胞にJCVを感染後1、10、20、30、40、60日後にsemi-quantitative PCR法を行ない、JCV genomeの有無を確認。表には細胞の由来、および用いたprimerの種類を明記。

# 麻疹の感染情報と亜急性硬化性全脳炎

班 員：二瓶 健次（国立小児・神経）

## 〔研究要旨〕

感染症サーベイランス委員会から報告されている、1987年から1998年までの麻疹に関する定点観測の発生の実態を知り、それによりSSPEの発症について考察した。1991年に比較的大きな流行が見られたが、1987年以降は徐々に麻疹の患者は減少していると考えられる。定点観測の報告数から患者総数を推定すると、1991年以降も年間30万程度の患者が発生したことになる。麻疹罹患からSSPEが発症する率を考えると、今後も年間少なくとも数名のSSPEの患者が発症するものと思われる。ワクチンの接種率の向上が望まれる。

Subacute sclerosing panencephalitis(SSPE) and surveillance study of measles

Kenji NIHEI

Department of Neurology, National Children's Hospital

## ABSTRACT

According to the report of surveillance committee of infectious disease, though there was relatively large measles endemic, measles infection is gradually decreasing since 1987 by the spread of measles vaccination. However, it is suspected from the report of a point surveillance that about over 300 thousand of measles patients still occurred a year now. The numbers of measles suggests that around 5 SSPE patients a year may still occur in future. More spreading of measles vaccination is needed to suppress of occurring of SSPE.

## 〔はじめに〕

亜急性硬化性全脳炎（SSPE）麻疹ウイルスによる遅発性ウイルス感染として知られており、麻疹の感染のあと数年の潜伏期間を経て発病する。従って麻疹の感染を抑えることが、SSPEの発症を抑えることになる。世界の先進国では、ワクチンの徹底した普及によりSSPEの発症は殆ど見られなくなっている。わが国では麻疹ワクチンの接種が始まって以来SSPEは減少しているが現在も毎年発生している。SSPEは現在も確定した治療法がなく、予後の悪い疾患であるので、麻疹を少なくし発生を予防しなければならない。

## 〔目的〕

1978年に麻疹ワクチンが施行されるようになり、麻疹罹患の数は減少し、それにつれてSSPEの発生数も減少したが、現在もSSPEの発症は毎年数例近く発生している。現在の日本における麻疹全国ワクチンの普及率は決して高いとはいえず、ときに小流行が見られる。これまでの麻疹流行の実態を、

各都道府県における定点観測情報から把握し、今後の SSPE の発症について考察する。

#### 〔方法〕

感染症サーベイランス委員会から提出される、全国の感染症に関する定点観測情報を参考にし、麻疹の患者数の推定、麻疹罹患と SSPE の発症率から SSPE の数の推定を行なった。

#### （倫理的配慮）

今研究において、倫理的な問題は発生しない。

#### 〔結果と考察〕

1) 全国定点病院における定点あたりの患者数の年次的な推移は 1991 年に比較的大きな流行があるが (28.7/定点)、その後少しずつ減少しており、1998 年では 4/定点となっている (図 1)。全国的には減少傾向が見られる。これは麻疹ワクチンの接種率の向上と一致するものである。

2) 各都府県における、麻疹流行は年次により異なっている。代表的な府県として、北海道、群馬、東京、大阪、宮崎、沖縄についてみると、東京、大阪などの大都市は患者絶対数が多い関係で全国定点患者数の推移に類似するが、北海道では流行は 1992 年に、沖縄では 1993 年にずれていた。また、北海道では 1996 年にも小流行が見られている。1998 年にはいずれも 1997 年に比し上昇していた。図 2,3 参照。このことは年次により、地域における SSPE の発症数も異なると考えられる。

3) 全国麻疹患者の年齢分布 (1987 年から 1998 年) については、0 歳台が 10-14% であり、1 歳台までを含めると 40 % 程度である。とくに SSPE 発症の要因となる 0 歳第発症の率は僅かながら上昇の傾向が見られた。また、最近の傾向として 15 歳以上の麻疹罹患が増加していることである。これは妊娠、分娩周辺期の罹患の可能性も大きくなっていることを示唆している。これはワクチンの不完全な普及が成人になるまで麻疹の罹患を免れることが多くなったため、ワクチン接種後の麻疹抗体価の減弱などが考えられる。

4) 定点病院における患者数は実数の 10% 程度と推定されているといわれている。定点あたりの患者数から、定点病院における患者数を算出し、推定の麻疹患者総数の推移を見てみると、図 4 のごとくとなる。1991 年の流行時は 70 万人、1998 年は 10 万人となる。定点患者数が実数の 20 倍とすると当然患者数はその倍となる。

5) 麻疹罹患患者からの SSPE の発症率は、必ずしも確定していないが、7-8 万人に 1 人といわれている。このことから推定すると、その年の麻疹患者から SSPE が発症する推定は図 5 のようになる。

6) 麻疹から SSPE 発症までの潜伏期間を平均 8 年とすると、今後の SSPE 発症の推定は麻疹感染のすべてが 8 年後に発症したとして図 6 のごとくとなる。これまでの正確な SSPE 登録患者数と比較しなければならないが、われわれが把握している年間 SSPE の数がこの数年は 5-7 例程度であるので、およその値を表しているものと考えられる。また、1999 年頃は正確な数を把握していないが SSPE の発症が多かったという印象がある。従って今後、しばらくの間は年間数例の SSPE の発症があるものと思われる。

#### 〔結論〕

麻疹に関する感染情報をもとに SSPE の発症を推定したが、少なくとも現状では年間単例が発症するものと考えられる。SSPE 患者の発症数の予想を正確にするためには、麻疹患者実数の正確な把握と、これまでの SSPE の患者実数の把握が必要である。また患者発生を抑制するには麻疹ワクチンの接種率をさらに向上させることが重要である。

〔参考文献〕

- 1) 厚生省保健医療局感染症対策室：感染症サーベイランス事業年報 1986 年-1998 年
- 2) 感染症情報センター：麻疹 1998 年現在、病原微生物検出情報、20:28-31,1999

〔研究発表〕

1.論文発表

- 1) Hara T., Yosida S., Aiba H., Nihei K., et al:  
Measles virus-specific T helper 1/Helper 2-cytokine production in subacute sclerosing panencephalitis.  
J Neurovirol. 6:121-126, 2000
  
- 2) 二瓶健次：亜急性脳炎、慢性脳炎、小児神経学の進歩、vol27：25-29, 2000