

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

プリオン病及び遅発性ウイルス感染
に関する調査研究

平成14年度～16年度 総合研究報告書

**Annual Report of the Prion disease and Slow
Virus Infection Research Group,
The Ministry of Health, Labour and Welfare**

主任研究者 水澤英洋

Chairman: Hidehiro Mizusawa, M.D.

Department of Neurology and Neurological Science,
Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

平成17(2005)年3月

目 次

I. 総合研究報告	1	
プリオン病及び遅発性ウイルス感染に関する調査研究		
主任研究者 水澤 英洋		
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学		
II. 分担研究報告	61	
1. 平成 16 年度分担研究報告		61
2. 平成 15 年度分担研究報告		82
3. 平成 14 年度分担研究報告		103
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	119	

総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合研究報告

プリオン病及び遅発性ウイルス感染に関する調査研究

主任研究者 水澤 英洋 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学
教授

研究要旨

平成 14～16 年度、プリオン病、亜急性硬化性全脳炎（SSPE）、進行性多巣性白質脳症（PML）の 3 疾患の発症機序の解明と治療法の開発により最終的にその克服を目的として研究を推進した。具体的には、プリオン病の全国サーベイランスによる変異型 CJD の診断確定などに代表されるように実態の把握や各種対策の遂行に大きな成果を上げ、SSPE でも発症危険因子と思われる新しい遺伝子が同定された。プリオン病における MRI などの検査法の有用性の評価を行い、SSPE では髄液サイトカインの特徴を明らかとした。変異プリオン蛋白の沈着と神経細胞変性を分離できる動物モデルの作製に成功し、凝集蛋白を解きほぐす新規蛋白の同定にも成功した。PML 感染に重要な JC ウイルス蛋白の同定や新規結合蛋白の発見と機能解析に成功し、その発症機序の解明に大きな進歩がみられた。また、二次感染予防の対策を検討したり、患者の会とも連携しカウンセリング体制を確立するなど福祉面でも大きく貢献した。このように、基礎研究から臨床、疫学そして福祉に至るまでの広汎な領域で大きな成果をあげることができたが、対象疾患は本事業の中でも最も難治性が高くその完全な克服には今後のさらなる研究の発展が必要である。

分担研究者	堀内 基広	北海道大学大学院獣医学研究科プリオン病学 教授	
毛利 資郎	九州大学大学院医学研究院動物実験施設実験動物学 教授	堂浦 克美	東北大学大学院医学系研究科創生応用医学プリオン蛋白分子解析分野 教授
三好 一郎	名古屋市立大学大学院医学系研究科実験動物研究教育センター 助教授	古川ひさ子	長崎大学医学部薬理学第 1 教室 助手
松田 治男	広島大学大学院生物圏科学研究科免疫生物学 教授	坂口 末廣	長崎大学大学院医学研究科感染分子病態学 講師
村本 環	東北大学大学院医学系研究科創生応用医学 CJD 早期診断・治療法開発分野 助教授	佐伯 圭一	東京大学大学院農学生命科学研究科応用免疫学 助手
金子 清俊	国立精神神経センター疾病研究第 7 部 部長	中村 好一	自治医科大学疫学・地域保健学 教授

山田 正仁 金沢大学大学院医学系研究科脳
老化・神経病態学 教授

村山 繁雄 東京都老人総合研究所神経病理
部門室長

二瓶 健次 社会福祉法人横浜共生会・横
浜らいつ 診療所所長

堀田 博 神戸大学大学院医学系研究科微
生物ゲノム学 教授

網 康至 国立感染症研究所動物管理室
村山分室 主任研究官

市山 高志 山口大学医学部小児科学
講師

細矢 光亮 福島県立医科大学小児科学
講師

長嶋 和郎 北海道大学大学院医学系研究
科分子細胞病理学 教授

保井孝太郎 東京都神経科学総合研究所微
生物研究部門 副所長

原 由紀子 杏林大学医学部病理学 助手

A. 研究目的

平成 14-16 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「プリオン病及び遅発性ウイルス感染に関する調査研究」はプリオン病、亜急性硬化性全脳炎 (SSPE)、進行性多巣性白質脳症 (PML) の 3 疾患を対象とし、これら 3 疾患の発症機序を解明し治療法を開発することにより、最終的には疾患を克服することを目的としている。具体的には、現状を疫学的に調査して疾患の実態を把握するとともに、現場の問題点を明らかにしその解決法を医療・福祉の両面から探ること、臨床調査を通じて発症の危険因子と疾患の特徴をより明らかにすること、有用な検査法の開発と改良に

努め早期の正確な診断に役立てることである。さらに、臨床的・基礎的研究により発症に関与する因子や遺伝子の同定、その機能・代謝過程・生体内での分布・他の分子との相互作用の解明、発症に関与する遺伝子変異の検索、感染因子の異常化のメカニズムの検討等により発症機序を明らかにし、より効果的な予防法や治療法を開発を目指す。実際の診療を通じて現在の治療法の改良に努めることや患者や関係者のサポートを推進することも含まれる。

B. 研究方法

プリオン病、SSPE、PML の 3 疾患の共通点は、感染因子が発症に関与していること、発症機序が不明な神経難病であること、予防法・治療法が解明されていない致死性疾患であることなどである。研究班の使命は研究成果を最終的には患者に還元しよりよい医療を提供することであるが、上記のような特徴を有する疾患を対象とした本研究班がその使命を遂行するためには、患者と直に接し診療・調査を通じて疾病の実態を把握することにより危険因子や発症機序を考察する疫学的研究、実際に治療をすることにより治療法に改良を加えより良い治療法を開発する臨床的治療に関する研究、症候・検査所見・病理等に関する臨床的・病理学的研究、および分子生物学的手法やモデル動物を使った基礎的研究のそれぞれをバランスよく推進することが重要である。本研究班では各疾患の疫学、治療、臨床研究、基礎研究のそれぞれの分野における専門家に分担研究者および研究協力者として研究に参加していただき、それぞれが研究

計画を作成しそれに則って目的を遂行するように努めることで研究を推進した。いずれの研究においても班として最大の研究成果が得られるように各人は専門とする分野を担当し、研究者間の相互の協力と情報交換を活発にし、互いが支援し合う環境を維持することに努めた。プリオン病研究においてはアミロイドーシス研究班とプリオン病の治療研究班の研究者にも参加を求め、互いの研究成果を共有して研究の促進に相乗的効果が得られることを期待した。具体的には以下に記載した方法により各研究を施行した。

プリオン病

1) 疫学的調査：疫学的調査では日本のプリオン病患者を全例実地調査することを基本的方針とした。そのために各県に1人ずつ任命されたプリオン病専門医が各症例を実際に調査し、その結果を全国の10のブロックに分けてそれぞれに1人ずつ配置されたサーベイランス委員が総括し、最後に年に2回開かれるクロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)サーベイランス委員会で最終診断を確定する体制をとった。この体制により正確な診断と豊富な臨床情報の獲得に努め、また変異型クロイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)の発生を監視した。この調査によりプリオン病の疫学的実態を把握し、さらに危険因子の検索等に応用した。年に1回、CJDサーベイランスに関する全国担当者会議を開き、最新の知見等の情報を伝達することによりプリオン病専門医ならびに各都道府県行政担当者との意見交換やその支援に努めた。

2) 患者・家族の支援体制の推進：プリオン病の患者と家族を医療面と心理面の両面から支援し、遺伝性プリオン病の家族や感染性プリオン病の危険因子に暴露されている人等のハイリスクグループに正確な医学知識を提供しかつ心理的にサポートするために専門家に研究協力者として加わっていただきカウンセリング体制の構築を推進した。また、CJDサーベイランスに関する全国担当者会議は厚生労働省との共催であり厚労省ならびに自治体の保健行政面の担当官も交えて会議を行った。

3) 臨床的研究：プリオン病の診断に用いられる画像検査、生理検査、検体検査のそれぞれについて有用性、特徴をサーベイランス調査対象患者において検討した。遺伝子変異別に見た遺伝性プリオン病の臨床像、硬膜移植の部位別の感染性CJDの特徴、臨床徴候等を研究し、また、中枢神経系を病理学的に検索してプリオン病の発症機序の解明を推進した。

4) 正常プリオン蛋白の機能と関連因子の解析：正常プリオン蛋白の機能、代謝過程、細胞内分布、およびそれらに影響を及ぼす因子の同定とその機序を培養細胞系や分子生物学的手法により検討した。プリオン蛋白の一部を欠失させたものを遺伝子工学的に作成して正常プリオン蛋白の部位別の機能を検討した。さらに、プリオン蛋白遺伝子欠損マウスを作成しプリオン蛋白の生理的役割について機能と形態の両面から検討した。

5) プリオン蛋白異常化の機序の研究：プリオン蛋白異常化の機序を解明するために試験管内、培養細胞系、モデル動物でプリオ

ン蛋白の異常化に影響を与える因子を検討した。

6) 早期・高感度の診断法の研究：尿中に検出される異常プリオン蛋白類似の物質の同定、プリオン蛋白を認識する新たなモノクローナル抗体の作製、牛海綿状脳症の早期生前診断のための生検部位の検討、ELISA法の改良等を行った。

7) モデル動物を用いた研究：プリオン蛋白遺伝子欠損マウスを用いた実験によりプリオン蛋白の機能を検討した。異常プリオン蛋白を実験動物に接種し、プリオン病を伝播させることにより発現する遺伝子の変動を観察した。また、ノックインマウス、トランスジェニックマウス等の作製により宿主側の様々な因子を変動させた実験動物に異常プリオン蛋白を接種し、増殖する異常プリオン蛋白の性状、病理学的所見を検索し、プリオン病伝播の機序の解明を進めた。

8) 治療法の研究：ペントサンポリサルフェート、キナクリン等の治療薬について培養細胞系の実験、動物実験によりその有効性を検証し、体内薬物動態を検討した。キナクリンは多数の患者における臨床治験を施行しその効果と副作用について報告し、さらに、より脳内移行率が高く副作用の少ない投与方法の開発に向けて検討した。また、ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与については英国での実施に協力し、日本での施行を推進した。異常プリオン蛋白の産生を阻害する物質のスクリーニングを施行し、新しい治療薬の有効な候補を検索した。

9) 「アミロイドーシスに関する調査研究班」の研究の紹介：アミロイドーシスとプリオ

ン病は発症に関与する蛋白が凝集・蓄積するという共通した機序を有しており、お互いの研究成果を共有することは両研究班にとって有意義であると考えられる。「アミロイドーシスに関する調査研究班」の池田班長に当研究班班長が相互に班会議に出席し発表を行い意見交換を行った。

10) 臨床検査、病理診断、剖検に対する支援：班員と研究協力者の協力により、プリオン蛋白遺伝子検査、病理検査、プリオン蛋白解析、14-3-3 蛋白の信頼性の高い測定を無料で施行するシステムを確立した。さらに、プリオン病の診断基準、診断の手引き、臨床調査個人票を作成あるいは改訂した。

11) 感染対策に対する支援：公衆衛生の面からプリオン病の感染対策を施行しなければならない事例、なかでも医療を介した感染の防止については英国インシデントパネルの方針を参考に検討を進め、事例に応じて具体的に対応した。

亜急性硬化性全脳炎 (SSPE)

1) 疫学的調査：日本と SSPE の多発地区であるパプアニューギニアにおける SSPE 患者の現状について調査し、その疫学的情報をまとめ危険因子を検索した。ワクチン接種と SSPE 発症の関連についてその麻疹感染歴、接種時期等を含めた実態と麻疹ウイルスの遺伝子変異について検討し、発症にかかわる因子について考察した。

2) 治療法の研究：リバビリンによる治療の現状について調査し、有効性、副作用についてまとめ、患者の髄液中のリバビリン濃度を測定した。その結果をふまえて治療の

有効性に関与する因子について検討し、至適な治療法について検討した。

- 3) 発症機序に関する基礎的研究：SSPE 患者の麻疹ウイルスの遺伝子変異について調べ、正常対照、麻疹患者と比較検討した。発症に関連している要因を解析することにより、SSPE の発症機序の解明を進めた。SSPE 患者の血清中サイトカインを日本とパプアニューギニアで測定し、麻疹ウイルス持続感染状態における生体反応の面から病態について考察した。
- 4) モデル動物の研究：おける麻疹ウイルスの感染と脳内への侵入機構を明らかにするために、サルをもちいて脳に麻疹ウイルスを感染させる実験を施行した。SSPE のモデルとなる麻疹ウイルス持続感染動物において抗体価やサイトカインの測定を行った。
- 5) 臨床診断に対する支援：臨床調査個人票、診断基準、病期分類を作成あるいは改訂した。

進行性多巣性白質脳症 (PML)

- 1) 疫学的調査：PML の実態について全国的疫学調査を施行した。さらにエイズ感染者における PML の発症状況と免疫状態の特徴をアンケート調査した。
- 2) 発症機序に関する基礎的な研究：JC ウイルスのオリゴデンドログリアへの親和性を規定している因子についてレセプターに関する側面から検討した。大脳の病理学的検索、JC ウイルス遺伝子の変異の解析、JC ウイルスの形態に関する研究より発症機序について検討した。
- 3) 診断基準の作成と診断サービス：PML の診断基準を作成し、また、髄液中の

JC ウイルスの PCR 診断、免疫組織学的診断、遺伝子診断を行った。

- 4) 治療ガイドライン作成：PML の治療ガイドラインの作成を推進した。

C. 研究結果

プリオン病

1) 疫学的調査

中村班員は 1999 年より本邦で行われているサーベイランス調査の対象となった 577 人を疫学的に検討しその臨床像を明らかにした。そのうち特に硬膜移植による感染性 CJD 102 例について詳細に報告した。山田班員は CJD サーベイランス委員長として全国のサーベイランスを行うとともに、プリオン病全体の約 1 割を占める 49 歳以下の若年例について検討し、遺伝性や感染性およびプリオン蛋白遺伝子コドン 129 番がメチオニンのホモである 2 型蛋白の例が多いことを報告した。また、vCJD の疑われた症例と孤発性 CJD の臨床診断困難例について検討を加えた。vCJD の疑われたものの最終診断は孤発性 CJD、感染性 CJD、Wernicke 脳症、脳幹脳炎、てんかん等であり、臨床診断困難例はコドン 129 番がメチオニンのホモの 2 型蛋白例やコドン 129 番がバリンのホモの 2 型蛋白例が多いと報告した。また、プリオン蛋白遺伝子コドン 129 番がメチオニンのホモで 2 型蛋白の剖検例の解析より、皮質型は脳 MRI 拡散強調画像 (DWI) が、視床型は脳血流 SPECT や PET が早期診断に有用であることを見出した。平成 16 年度にはサーベイランスにて疑わしい症例を検出し監視を続け最終的に剖検にて本邦で初めての vCJD 症例の確定診断を行い、その

後も厚生労働省と協力して感染経路の調査、二次感染予防対策の検討などを行った。佐藤研究協力者は1985年から2001年までの日本のプリオン病の症例937例についてその原因、遺伝子型、症状等につき疫学的な検討を加えた。また、硬膜移植によるプリオン病では天幕上に移植を受けた場合には大脳半球症状が多く、天幕下に移植を受けた場合には脳幹症状が多いことを認め、症状と移植部位に関連が見られると報告した。袖山研究協力者は日本のサーベイランス調査でのCJD 確実群における脳波、脳MRI、14-3-3 蛋白の感度はそれぞれ75%、71%、73%と類似しているが、施行率はそれぞれ100%、88%、54%と検査によって違いがあることを報告した。また、発症から検査で異常が認められる期間についてサーベイランス調査の対象症例について検討し、14-3-3 蛋白、脳MRI、neuron specific enolase は検査陽性数が発症1月後にピークに達するが脳波はそれが発症2月後であると報告した。村山班員は特別な感染症対策をなされていない一般剖検室でのプリオン病患者の全身剖検に関わる指針を呈示した。

2) 患者・家族の支援体制の推進

田村研究協力者はプリオン病患者及び家族に対する心理的支援と遺伝カウンセリングの実施に向けてそのモデルを構築した。また、医療を介する感染リスクのある事例に対して、滅菌処置の実施、該当者の登録や説明について指導と支援を行った(後述)。

3) 臨床的研究

湯浅研究協力者はCJD患者の脳MRIについて詳細に検討し、DWI は初期から高感度にCJDの異常を検出できること、DWI での

高信号は経過とともに消退することから、一過性の浮腫か、ミクログリアの増生を伴う海綿状変化のある時期を反映していると考察した。また、脳MRI ADCは初期より低下し中期から後期には上昇することを示した。さらに、亜急性に進行するGerstmann-Straüssler-Scheinker病(GSS)では脳MRIにて明瞭な皮質病変が認められるが、緩徐進行性のGSSでは画像上異常が認められないことを報告した。黒岩研究協力者はプリオン遺伝子蛋白200番に変異を持つ遺伝性プリオン病は精神症状で発症することが多く、MRIでの特徴的な異常は脳波上の周期性同期性放電より先に認められると報告した。また、CJDにおける脳MRIは初期には半側から出現しその後対側に進展すること、大脳皮質と基底核がともに高信号を呈する時期に体の反対側にミオクローヌスが出現することを認めた。さらに、CJDに特徴的と考えられる周期的な頭部・眼球の向地性運動を報告した。志賀研究協力者はプリオン蛋白遺伝子コドン232番に変異を持つ遺伝性プリオン病の症例を検討してその特徴を報告すると共に一部に緩徐進行性の亜型があることを明らかにした。村山班員はプリオン病の剖検例の検討からDWIで認められる高信号病変は病的には海綿状変化を反映していると考察した。また、プリオン蛋白遺伝子の8ペプチドの5回繰り返し挿入による遺伝性プリオン病の1家系を報告し、遺伝子変異と臨床像の関連について考察を加えた。天野研究協力者はプリオン病の病理所見について検討を加え、特にプリオン病の視床病変について病理的に検討し、海綿状変化は軽度である

が、グリオシスや異常プリオン蛋白の沈着は初期から高度であること、海馬病変の程度は軽いが異常プリオン蛋白の沈着は多いことを報告した。岩城研究協力者は CJD 患者の脳の部位別の病理所見の程度を半定量的に評価し、大脳皮質、線条体、視床、小脳では初期より変化が高度で、海馬、脳幹の変化は軽いことを報告した。

4) 正常プリオン蛋白の特徴と関連する因子の解析

坂口班員はプリオン融合蛋白を作成して種々の培養細胞と反応させることにより、プリオン蛋白と結合する因子が様々な細胞で発現しており、その因子とプリオン蛋白が結合する部位がプリオン蛋白の N 末領域に存在することを証明した。また、培養細胞を用いた実験系において、異なる変異を持つプリオン蛋白は正常プリオン蛋白の異常プリオン蛋白への変換効率や抑制効果も異なっていることを示した。佐伯班員はプリオン蛋白遺伝子欠損マウスの細胞にプリオン蛋白を再発現させることにより、SOD 活性が上昇し活性酸素の発生の抑制と過酸化水素の蓄積が見られること、プリオン蛋白にアポトーシス抑制効果と神経突起形成作用があること、プリオン蛋白のアポトーシス抑制効果にはオクタリピート領域と疎水性領域が重要であることを示した。金子班員は独自に同定した、正常に folding された蛋白を unfold する unfoldin がプリオン蛋白も同様に unfold することをつきとめた。

5) プリオン蛋白異常化の機序の研究

村本班員はモデル動物で発現させたプリオン蛋白の異常化を検出するためのエピト

ータグを開発した。また、人工的に合成した膜貫通型プリオン蛋白が培養細胞系でラフトへ移行し異常プリオン蛋白化することを報告し、今後のこの蛋白を発現するトランスジェニックマウスでの解析への展開を示した。堀内班員は硫酸化した配糖体の中に異常プリオン蛋白の増殖を抑制するものがあることを見出し、その構造から 2 位に N-アセチル基と 4 または 6 位に硫酸基を同時に持つことが効果の発現に必要なことを解明した。

6) 早期・高感度の診断法の研究

田中研究協力者はプリオン蛋白を認識するモノクローナル抗体を新たに作製し、また、captured-ELISA 法に改良を加えることによりプリオン蛋白検出法の高感度化を達成した。古川班員はプリオン病患者の尿中にプロテアーゼ抵抗性プリオン蛋白類似の物質が検出されるが、これは尿路感染している細菌に由来する細胞外膜蛋白であり、異常プリオン蛋白ではないことを証明した。また、ハムスター、マウス、牛の vomeronal organ に高レベルの正常プリオン蛋白が発現していることを示し、末梢組織ではこの部位の生検で異常プリオン蛋白の存在を生前に証明できる可能性を指摘した。堀内班員は captured-ELISA 法の発色による検出法と試料調整法を改良することにより検出感度を 4 倍にすることに成功した。志賀研究協力者は CJD 診断における DWI の感度と特異度がそれぞれ 92.3%、93.3%であったとし、DWI の有用性を強調した。調研究協力者は CJD 患者の髄液中の 14-3-3 蛋白と tau 蛋白の測定が診断に有用であると報告した。また、髄液中のタウ蛋白の濃度は発症後急

激に上昇して 6~12 週後にピークとなり、その後漸減していくことを示した。

7) モデル動物を用いた研究

毛利班員はヒトプリオン蛋白遺伝子ノックインマウスに異常プリオン蛋白を腹腔内投与する実験によって濾胞樹状細胞における異常プリオン蛋白の検出がプリオン蛋白の伝達性と相関することを明らかにした。この系で硬膜移植後 CJD プラーク型に由来する異常プリオン蛋白も検出可能であることを確認した。また、プリオン蛋白遺伝子コドン 129 番がバリンであるヒトプリオン蛋白遺伝子ノックインマウスにプリオン蛋白遺伝子コドン 129 番がバリンのホモで 2 型蛋白の異常プリオン蛋白を伝達することに成功し、伝達後にもこの型のプリオン病の特徴が保存されていることを確認した。三好班員はヒトグルコシルセラミド合成酵素高発現トランスジェニックマウスを作製して、異常プリオン蛋白を感染させる実験系にてプリオン蛋白の感染に関与する因子を解析した。また、異常プリオン蛋白を伝播した実験動物やプリオン持続感染細胞に対して治療を試みた系において遺伝子発現の変動を観察し、異常プリオン蛋白の増殖に関与する機序とプリオン蛋白の構造変換に関与する機序の相違を推定した。坂口班員はプリオン蛋白欠損マウスの小脳プルキンエ細胞変性にはプリオン蛋白の機能喪失とプリオン類似蛋白の過剰発現が必要であることを示した。村本班員は GPI アンカーを欠く分泌型変異プリオン蛋白を発現するトランスジェニックマウスに異常プリオン蛋白を接種したところ分泌型プリオン蛋白の蓄積は認められるものの、びまん性の異

常プリオン蛋白の沈着や海綿状変化は乏しく長期間神経症状を呈さないことを報告した。

8) 治療法の研究

調研究協力者はキナクリンによる臨床治験の結果を報告し、キナクリンの投与によって一過性の改善をみるが、病勢を停止させることはできなかつたと報告した。また、ベラパミルの併用がキナクリンの脳血管関門の通過を改善することを発見した。さらに、ペントサンポリサルフェートの脳血管関門を透過する分画について検討し、複数の低分子分画を同定した。山田(達)研究協力者はキナクリンによるプリオン病の治療について報告し、症状の一時的改善を認めたこと、高頻度に皮膚の黄染、肝障害等の副作用が出現したことを報告した。さらに副作用を軽減させるためのキナクリン、ベラパミル、シメチジンの 3 剤併用療法の成績を紹介し 3 例中 2 例で副作用を認めなかつた。また、本邦初のペントサンポリサルフェート脳室内持続注入治療を施行した例を紹介した。堂浦班員はプリオン病のモデルマウスにペントサンポリサルフェートを投与すると異常プリオン蛋白の沈着が抑制されることを発見した。続いて英国においてペントサンポリサルフェートの脳室内持続注入による治療を vCJD の患者に世界で初めて行い、症状に改善が認められたことを報告した。また、プリオン持続感染細胞系を用いた実験系において、複数のアミロイド・イメージング化合物に低濃度で異常プリオン蛋白の産生阻害能があることを見出し、モデル動物における実験でもこれらの物質の末梢からの投与で生存期間を延

長させられることを証明した。黒田研究協力者はキナクリンとクロルプロマジンの併用による GSS の治療経験からこの治療法が GSS の進行を抑制する可能性を指摘した。

9) 「アミロイドーシスに関する調査研究班」の研究の紹介

プリオン病に限らずアミロイドーシスは一般に伝播することが想定されており、食肉に含まれるアミロイドがヒトのアミロイドーシスの危険因子である可能性がある。池田研究協力者は約 5%の高齢牛の腎に AA アミロイド蛋白の沈着が見られることを報告し、食の安全確保の面からこの原因追及の必要性を指摘した。

10) 臨床検査、病理診断、剖検に対する支援

北本研究協力者はプリオン蛋白遺伝子検査、免疫組織検査、western blot 検査を、堂浦班員は髄液中の 14-3-3 蛋白の測定を、それぞれ無料で施行するシステムを確立し、全国からの検査の依頼に応えることによりプリオン病の診断に貢献した。北本研究協力者は依頼に応じて剖検を実地に施行し、症例の確定診断に寄与した。研究班では剖検のための費用の一部負担を開始しプリオン病の剖検率向上に尽力した。さらに、プリオン病の診断基準、診断の手引きを作成し、診断の一助とするとともに特定疾患のための臨床調査個人票を作成し福祉施策に貢献した。

11) 感染対策に対する支援

脳神経外科手術が施行された直後にプリオン病の診断が確定された事例が発生し、手術室・手術機器の消毒、感染リスクのある患者の登録、説明あるいはカウンセリン

グ等に関して英国インシデントパネルの指針にもとづき支援を行った。

亜急性硬化性全脳炎 (SSPE)

1) 疫学的調査

二瓶班員は日本の SSPE 患者の疫学的調査を施行し、現在の発症数は年間 5~10 例で、最近では発症年齢が高くなり、死亡までの期間が延長していること、診断までに平均約 2 ヶ月間がかかっていることを報告した。高須研究協力者は SSPE の多発地域であるパプアニューギニアにおける SSPE の原因を検討し、麻疹ワクチン接種が普及しておらずその麻疹ワクチンの力価も低いこと、一歳未満麻疹罹患と麻疹罹患前 4 週以後の麻疹ワクチン受種が高い有意差を持つ危険因子であることを見出し、さらに未熟児であることと麻疹罹患後のワクチン接種が危険因子である可能性を指摘した。

2) 治療法の研究

二瓶班員は日本の SSPE 患者の治療状況について調査した。インターフェロンとイノシンプラノベクスの併用療法では治療後改善を示した例が 18%、一時悪化したその後改善を示した例が 7.7%である一方、改善後悪化する例や改善がない例が 56.3%あることを明らかにした。インターフェロンとリバビリンの併用療法については、低年齢でインターフェロンを連日投与している方に改善が見られること、多くの例でリバビリンの脳室内投与によって髄液中濃度が有効値に達することを明らかにした。野村研究協力者は日本のリバビリン治療の現状を調査し、リバビリン治療を開始するまでの期間と治療効果には明らかな関連がない

こと、副作用に重篤なものはなく投与の中止によって改善することを報告した。また、髄液中のリバビリジン濃度が一日のうち50 μ g/ml以上である期間の割合が大きいほど髄液中の麻疹抗体価が低下する傾向を認めた。細矢班員はリバビリジンの脳室内投与の成績を報告し Jabbour 分類の2期までに治療を開始すると症状は改善するが3期では大きな効果は認められないことを報告した。リバビリジン治療中の患者の髄液中のリバビリジン濃度を経時的に測定して薬理動態を明らかにした。また、有効髄液濃度が得られる投与方法を確立し、その方法により症状と髄液中の麻疹ウイルス抗体価がともに改善することを報告した。

3) 発症機序に関する基礎的研究

市山班員はパプアニューギニアと日本のSSPE患者の血清中のサイトカインを測定し、IL-6の高値にかかわらずsIL2R α とインターフェロン γ が低値を示す例が多いことを発見し、SSPEの病態との関連を考察した。楠原研究協力者はSSPEの発症にMxA promoterの88G/T多型とIL-4590C/T多型が発症に関連していることを発見した。また、正常対象、SSPE患者、麻疹患者における単核球の遺伝子発現を比較し、SSPE患者ではgranulysin遺伝子の発現が低いが麻疹患者ではこの遺伝子の発現が高いことを見出し、granulysinがSSPEの発症に関連している可能性を指摘した。堀田班員はSSPE患者由来の麻疹ウイルスと通常の麻疹ウイルスを比較し、SSPE患者由来のものには通常見られないアミノ酸変異があること、M蛋白の可溶性に違いが見られることを明

らかにした。また、麻疹ウイルスの野外流行株とワクチン株の間に単球由来樹状細胞における感染ウイルスの産生・放出に相違があること、M蛋白の蓄積に差があることを報告した。二瓶班員はSSPE患者の髄液中のサイトカインを測定し、SSPEにおける免疫応答は活性化と沈静化を繰り返していると考えた。また、SSPE患者で髄液中の抗CD9抗体が高値を呈していることを報告した。

4) モデル動物の研究

網班員はカニクイザルの中樞神経に麻疹ウイルスを持続感染させた動物モデルにおいて、髄液中の麻疹ウイルス中和抗体とインターフェロン γ が高値を示していることを報告し、免疫系の賦活を反映していると考えた。

5) 臨床診断に対する支援

二瓶班員が中心となり特定疾患のための臨床調査個人票、診断基準、病期分類を作成し、日常診療と患者の福祉の向上に貢献した。

進行性多巣性白質脳症 (PML)

1) 疫学的調査

岸田研究協力者は神経内科専門医を対象とした疫学調査を施行した。1999年から2003年の間のPML患者数は52例であり、21例がHIV陽性でHIV陽性者は増加傾向にあった。エイズ治療拠点病院を対象とした疫学調査では2003年から2004年のエイズ患者のうち17名がPMLを発症しており、以前と比べてPMLが増加していること、多剤併用抗レトロウイルス療法により免疫状態が改善しているものにも発症が見られるこ

とを報告した。

2) 発症機序に関する基礎的な研究

原班員は PML 患者の脳を病理学的に検討し、promyelocytic leukemia 蛋白が核膜近傍に存在しここにウイルスカプシド蛋白も集積することを発見した。このことは PML 核体がウイルス粒子形成に重要な役割を演じていることを示していると考えられた。余郷研究協力者は PML 患者由来の JC ウイルスの塩基配列を検索し、蛋白表面でループを形成すると考えられている VP1 配列に特異的にアミノ酸置換を伴う変異を生じていることを発見した。長嶋班員は JC ウイルスが importin α 、 β と結合して核内に移行することを明らかにした。また、JC ウイルスの転写調節領域に結合する蛋白を同定し、fCl.35 と仮称した。この蛋白は JC ウイルスの転写・複製に深く関与していることが推定された。安井班員は JC ウイルスを強制発現させた培養細胞系で minor カプシド蛋白 VP2、VP3 がカプシド蛋白の細胞質から核への移行、集積、粒子形成に関与していることを証明した。

3) 診断基準の作成と診断サービス

臨床診断の助けとするために PML の診断基準を作成した。また、PML の診断サービスとして余郷研究協力者は髄液中の JC ウイルスの PCR 診断を、長嶋班員は脳生検・剖検組織を用いた免疫組織学的診断、遺伝子診断を無料で行った。

4) 治療ガイドラインの作成

黒田研究協力者は PML の治療ガイドラインの作成に向けてその編集方針、内容の概要、作成期間を検討し、具体的作成作業に着手した。

D. 考察

本研究班はプリオン病、SSPE、PML の 3 疾患を疫学的研究、臨床研究、基礎研究、治療に関する研究によって多角的に解析し、最終的には 3 疾患を克服することを目的としている。本研究班の平成 14 年度から 16 年度の研究ではそれぞれの分野で大きな成果が得られ、さらにいくつかの特筆すべき進展が見られた。

プリオン病

患者の実態調査は主としてサーベイランス調査によって行われた。調査は全例を専門医が実地調査する原則が貫かれ、高いレベルで正確な診断と情報の収集がなされた。また、硬膜移植によるプリオン病や診断困難例についての特徴が詳細に検討された。特に、脳神経外科手術直後の CJD 発症事例など感染対策上問題のある例や vCJD 疑い例では、緊急サーベイランス調査が班長かサーベイランス委員長が参加して施行された。vCJD の日本での第 1 例目の症例は進行期に現在まで報告のない特徴を呈した診断困難例であったが、継続的に追跡調査し剖検にて診断し得た成果は大きい。臨床研究の面では MRI による画像診断と髄液中の tau 蛋白、14-3-3 蛋白についての検討に進展が見られた。また、遺伝性プリオン病の特徴が詳細に検討されその病像理解に進展があった。臨床研究、疫学的情報に関しては結果を迅速に発表することにより最新の情報を診療に当たる医療者と共有した。疫学的研究、臨床研究の面での成果は大きく、目的を十分に達成したと考えられる。

基礎研究においてはプリオン蛋白の部

位別の機能の解析、異常化に関与する部位の解明、プリオン蛋白の異常化や伝達に関連する因子についての実験動物や培養細胞系を用いた研究に進展が見られた。さらに、プリオン蛋白を含む正常蛋白を unfolding する unfoldin を同定したことはプリオン病等の蛋白の異常構造化が病態の中核と考えられている疾患の発症機序と治療法を解明する点で画期的な基礎研究と言える。早期診断法については抗体の作成や感度の向上がなされ、また牛海綿状脳症の生前診断の可能性が示された。正常プリオン蛋白の機能とプリオン蛋白の異常化の機序について十分には解明されてはいないが、着実な進歩が見られ今後の展開につながるものと考えられる。

治療の面ではキナクリンの多数例での臨床研究が報告され効果と副作用についての詳細が明らかとなった。これは世界的に類のない重要な報告である。また、世界に先駆けて英国で行われたペントサンポリサルフェートの脳室内持続投与療法の開発と施行において当班の班員が中心的役割を演じ、日本においても第1例目の治療を開始したことは特筆すべき点である。さらに、アミロイド・イメージング化合物の治療への応用の展望が得られたことは今後の治療成績に大きい期待を抱かせるものである。治療研究の面では長足の進歩が認められたと考えられる。

亜急性硬化性全脳炎 (SSPE)

疫学的な研究では日本とパプアニューギニアにおける調査から SSPE の危険因子についての研究に前進が見られ発症機序の解明に進歩をもたらした。

発症機序に関する研究では SSPE 患者のサイトカインや宿主の遺伝子多型、原因遺伝子の特異的な変異、発症に関連する物質に関して新たな知見が得られた。しかし、発症機序の十分な解明には至っておらず、さらなる研究の発展が期待される。

治療の面ではリバビリンの治療成績の現状が多数例の検討により明らかとなり、またリバビリンの生体中での薬学的動態や麻疹ウイルス抗体価の推移が明らかにされたことの意義は大きいと考えられる。

進行性多巣性白質脳症 (PML)

疫学調査では現在の PML の全国における状況とエイズ患者の PML の免疫状態や治療状況に関連した情報が収集され、より良い診療の提供と今後の臨床研究の方向付けに寄与した。

基礎研究では JC ウイルスの感染・複製に関連する蛋白の役割についての検討と PML 発症者に認められる JC ウイルスの変異に関して重要な結果が得られた。特に JC ウイルスの転写調節領域に結合し、その転写・複製に関連していると考えられる新しい分子の同定に成功したことは満足すべき成果である。

研究成果の学術的・国際的・社会的意義については、本研究班の対象とする3疾患について基礎研究、臨床研究のいずれの領域においても一流の国際誌に多数の英文の原著論文が掲載され、国際学会での演題発表も盛んであった。同様に国内の学術誌に原著論文や総説が数多く発表され、国内の学会、班会議、CJD サーベイランスに関する全国担当者会議でも演題発表は多く、活発な討論がなされ最新の情報を診療に当た

る医療者と共有し、成果を臨床の現場や患者の利益に還元し得た。

また、英国でペントサンポリサルフェートの脳室内持続注入療法を施行したことは世界に先駆けた業績であり、キナクリンの治療に関する研究も世界的に類がなく国際的にたいへん重要である。さらに、日本初の vCJD の症例を診断・報告し得たことも実務面における特記すべき成果である。

社会的な側面から見た場合に重要なのは治療と感染対策である。当研究班が対象としている根治的治療法のない疾患に罹患した患者や家族が治療法の開発に寄せる期待は切実であり、その進展へのニーズは大きい。この点で治療面における上記の進歩は社会的にも大きな意義を持つものである。さらに患者支援のためのカウンセリング体制のモデルの構築し得たことは、診断・治療に留まらない包括的な医療を目指す試みである。感染予防の点においてもプリオン病については個別の事例に関して実地に感染対策を施行した。また、それぞれの疾患について臨床検査、遺伝子診断、病理診断、剖検を当研究班の班員が施行し、診断基準、診断の手引き、臨床調査個人票を作成することにより臨床診断と福祉施策に貢献したことは満足すべき成果である。

学術的、国際的および社会的のいずれの面においても当研究班は対象とする 3 疾患に関して期待される成果を達成し得たと考えられる。

今後の展望について、プリオン病、SSPE、PML に関してはともにサーベイランス調査等の疫学調査を通じて実態を迅速かつ正確に把握する体制をさらに充実させ、さらに

患者・家族の支援を医療と福祉の両面から確立させる必要がある。プリオン病ではその発症に重要な役割を演じているプリオン蛋白の機能と異常化のメカニズムの解明を今後も推進していくことが病態解明へ向けての中心的作業となる。治療に関してはキナクリンとペントサンポリサルフェートのより効果的で副作用の少ない投与方法への改良とアミロイド・イメージング化合物に代表される近い将来に実用化が期待される治療法の臨床応用への発展が急務である。SSPE の基礎研究では SSPE 患者由来の麻疹ウイルスの変異やその性状の解析、SSPE 発症者におけるサイトカインの変化や遺伝性危険因子の解明が、PML の基礎研究では JC ウイルスの変異や JC ウイルスの感染や転写・複製に関係する因子と発症との関連の解明が研究の進むべき方向と考えられる。SSPE と PML の治療に関しては標準的治療の確立および治療ガイドラインの作成が必要である。

E. 結論

本研究班はプリオン病、SSPE、PML の 3 疾患の克服を目指して、平成 14～16 年度において疫学的研究、臨床研究、基礎研究、治療研究、感染予防、福祉支援などの非常に広い範囲できわめて大きな成果をあげてきた。その中にはまさに行政との連携プレイにより達成できたことも多い。今後も、単に生物学的な研究のみならず、行政的、社会医学的、福祉的側面も大きいという難治性疾患克服事業の特色に充分配慮しつつ、最終的にはプリオン病、SSPE、PML の 3 疾患を克服すべく努力を続けて行かなければ

ならない。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Horiuchi H, Nemoto T, Ishiguro N, Furuoka H, Mohri S, Shinagawa M : Biological and biochemical characterization of sheep scrapie in Japan. *J. Clin. Microbiol.* 40 (9) : 3421-3426, 2002
- 2) Kitamoto T, Mohri S, Ironside J.W, Miyoshi I, Tanaka T, Kitamoto N, Itohara S, Kasai N, Katsuki M, Higuchi J, Muramoto T, Shin R-W : Follicular dendritic cell of the knock-in mouse provides a new bioassay for human prions. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 294 (2) : 280-286, 2002
- 3) Gombojav A, Shimauchi I, Horiuchi M, Ishiguro N, Shinagawa M, Kitamoto T, Miyoshi I, Mohri S, Takata M : Susceptibility of transgenic mice expressing chimeric sheep, bovine and human PrP genes to sheep scrapie. *J. Vet. Med. Sci.* in press
- 4) Kikuchi Y, Kakeya T, Yamazaki T, Takekida K, Nakamura N, Matsuda H, Takatori K, Tanimura A, Tanamoto K, Sawada J : Gl-dependent prion protein expression in human glioblastoma cell line T98G. *Biol. Pharm. Bull.* 25 : 728-733, 2002
- 5) Furuta M, Ito T, Eguchi C, Tanaka T, Wakabayashi-Takai E, Kaneko K : Two-dimensional electrophoresis/phage panning (2D-PP) ; A novel technology for direct antibody selection on 2-D blot. *Journal of Biochemistry.* 132 : 245-251, 2002
- 6) Tanaka T, Ito T, Furuta M, Eguchi C, Toda H, Wakabayashi-Takai E, Kaneko K : In situ phage screening; a method for identification of subnanogram tissue components in situ. *Journal of Biological Chemistry.* 277 : 30382-30387, 2002
- 7) Perrier V, Kaneko K, Safar J, Vergara J, Tremblay P, DeArmond SJ, Cohen FE, Prusiner SB, Wallace AC. Dominant-negative inhibition of prion replication in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* 99 : 13079-84, 2002
- 8) Korth C, Kananeko K, Groth D, Heye N, Telling G, Mastrianni J, Parchi P, Gambetti P, Will R, Ironside J, Heinrich C, Tremblay P, DeArmond SJ, Prusiner SB. Abbreviated transmission of Creutzfeldt-Jakob disease to mice expressing a novel chimeric prion protein transgene. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.*, in press
- 9) Hachiya NS, Sakasegawa Y, Sasaki H, Tsukita S, Kaneko K : Unfoldin (AIP2), an ATP-dependent unfolding chaperone, unfolds correctly folded substrates with broad specificity in vitro, and colocalizes with the septin complex in vivo. in submission
- 10) Sasaki K, Doh-ura K, Ironside WJ, Iwaki T : Increased clusterin (apolipoprotein J) expression in human and mouse brains infected with transmissible spongiform encephalopathies. *Acta Neuropathol* 103 : 199-208, 2002
- 11) Koide T, Ohtake H, Nakajima T, Furukawa H, Sakai K, Kamei H, Makifuchi T, Fukuhara N : A patient with Lewy bodies and codon 232 mutation of PRNP. *Neurology.* 59 : 1619-1621, 2002
- 12) Shyu WC, Harn HJ, Saeki K, Kubosaki A, Matsumoto Y, Onodera T, Chen CJ, Hsu YD, Chiang YH : Molecular modulation of expression of prion protein by heat shock. *Mol. Neurobiol.* 26 : 1-12, 2002
- 13) Nishida Y, Yamada M, Hara K, Tsunemi T, Yamawaki M, Shimokawa R, Okeda R, Tsutsumi T, Mizusawa H : Creutzfeldt-Jakob disease after Janneta's operation with cadaveric dura mater graft : initial manifestations related to the grafted site. *J. Neurol.* 249 : 480-483, 2002.
- 14) Shiraishi A, Mizusawa H, Yamada M : Early and persistent sensory-psychiatric

symptoms in an inherited prion disease with a PrP^{Sc} P105L mutation. *J Neurol.* 249 : 1740 – 1741, 2002

15) Ishida C, Kakishima A, Okino S, Furukawa Y, Kano M, Oda Y, Nakamishi. , Makifuchi T, Kitamoto T. Yamada M : Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with MM1 type prion protein and plaques. *Neurology.* (in Press) .

16) Itoh M, Okuno Y, Hotta H : Comparative analysis of serum antibody titers against measles virus in vaccinated and naturally infected Japanese individuals of different age groups. *J. Clin. Microbiol.* 40 : 1733 – 1738, 2002

17) Anlar B, Ayhan A, Hotta H. . Itoh M, Engin D, Barun S, Koseoglu, O : Measles virus RNA in tonsils of asymptomatic children. *J. Paediatr. Child Health* 38 : 424 – 425, 2002

18) Ohgimoto S, Ohgimoto K, Itoh M, Ihara T, Hotta H : Viral assembly and/or release of vaccine strains, but not field isolates, of measles virus is impaired in cultured human dendritic cells. (in preparation)

19) Tashiro N, Matsubara T, Uchida M, Katayama K, Ichiyama T, Furukawa S : Ultrasonographic evaluation of cervical lymph nodes in Kawasaki disease. *Pediatrics* 109 : e77, 2002

20) Umeda S, Ictdyama T, Hasagawa S, Matsubara T, Furukawa S : Theophylline inhibits NF- κ B activation in human peripheral blood mononuclear cells. *Int Arch Allergy Immunol* 128 : 130 – 135, 2002

21) Ichiyama T, Isumi H, Yoshitomi T, Nishikawa M, Matsubara T, Furukawa S : NF- κ B activation in cerebrospinal fluid cells from patients with meningitis. *Neurol Res* 24 : 709 – 712. 2002

22) Kawashima H, Watanabe Y, Ichiyama T, Mizuguchi M, Yamada N, Kashiwagi Y, Takekuma K, Hoshika A, Mori T : High concentration of serum nitrite/nitrate obtained

from patients with influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Int* 44 : 705 – 707, 2002

23) Kimura M, Tasaka M, Sejima H, Takusa Y, Ichiyama T, Yamaguchi S : Hemiconvulsion – hemiplegia syndrome and elevated interleukin – 6 : case report. *J Child Neurol* 17 : 705 – 707, 2002

24) Ichiyama T, Hayashi T, Isumi H, Furukawa S. Inhibitory effect of valproate on cytokine production. *Epilepsia* 43 (suppl. 9) : 69 – 70, 2002

25) Yoneshima Y, Ichiyama T, Ayukawa H, Matsubara, Furukawa S. Fosfomycin Inhibits NF – B activation in human peripheral blood mononuclear cells. *Int J Antimicrob Agents* in press

26) Nishikawa M, Ichiyama T, Hasegawa M, Kawasaki K, Matsubara T, Furukawa S. The safety for thromboembolism of intravenous immunoglobulin therapy in Kawasaki disease : the study of whole blood viscosity. *Pediatr Int* in press

27) Ichiyama T, Isumi H, Ozawa H, Matsubara T, Morishima T, Furukawa S • Cerebrospinal fluid and serum levels of cytokines and soluble tumor necrosis factor receptor in influenza virus-associated encephalopathy. *Scand J Infect Dis* in press

28) Hasegawa K, Ichiyama T, Isumi H, Nakata M, Sase M, Furukawa S. NF- κ B Activation in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Neonatal Asphyxia. *Clin Exp Immunol* in press

29) 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.

30) Okada Y, Sawa H, Tanaka S, Takada A, Suzuki S, Hasegawa H, Umemura T, Fujisawa

- J, Tanaka Y, Hall WW, Nagashima K :
Transcriptional activation of JC virus by
human T-lymphotropic virus type I Tax protein
in human neuronal cell lines. *J Biol Chem.*
275 : 17016–17023, 2000
- 31) Okada Y, Endo S, Takahashi H, Sawa H,
Umemura T, Nagashima K : Distribution and
function of JCV agnoprotein. *J Neurovirol.* 7 :
302–306, 2001.
- 32) Suzuki S, Sawa H, Komagome R, Orba
Y, Yamada M, Okada Y, Ishida Y, Nishihara
H, Tanaka S, Nagashima K : Broad distribution
of the JC virus receptor contrasts with a
marked cellular restriction of virus replication.
Virology. 286 : 100–112, 2001.
- 33) Hayashi H, Endo S, Suzuki S, Tanaka S,
Sawa H, Ozaki Y, Sawamura Y, Nagashima
K : JC virus large T protein transforms rodent
cells but is not involved in human
medulloblastoma. *Neuropathology.* 21 : 129
–137, 2001.
- 34) Safak M, Barrucco R, Darbinyan A, Okada
Y, Nagashima K, Khalili K : Interaction of JC
virus agno protein with T antigen modulates
transcription and replication of the viral
genome in glial cells. *J Virol.* 75 : 1476–1486,
2001.
- 35) Komagome R, Sawa H, Suzuki T, Suzuki
Y, Tanaka S, Atwood WJ, Nagashima K :
Oligosaccharides as receptors for JC virus. *J
Virol.* 76 : 12992–13000, 2002
- 36) Okada Y, Sawa H, Endo S, Orba Y,
Umemura T, Nishihara H, Stan AC, Tanaka S,
Takahashi H and Nagashima K : Expression of
JC virus agnoprotein in progressive multifocal
leukoencephalopathy brain. *Acta Neuropathol
(Berl)* . 104 : 130–136, 2002.
- 37) Arai Y, Tsutsui Y, Nagashima K, Shinmura
Y, Kosugi T, Wakai M, Nishikage H,
Yamamoto J : Autopsy case of the cerebellar
form of progressive multifocal
leukoencephalopathy without
immunodeficiency. *Neuropathology.* 22 : 48
–56, 2002.
- 38) Orba Y, Sawa H, Nagashima K : [Molecular
neuropathology of JC virus]. *No To Shinkei.*
54 : 101–109, 2002.
- 39) Zhou Z, Wakita T, Yasui K : Inoculation
of plasmids encoding Japanese encephalitis
virus prM–E proteins with colloidal gold
elicits a protective immune response in Balb/
c mice. *J. Virol.* in press
- 40) Ito T, Yasui K, Mukaikawa J, Katume A,
Kohara M, Mitamura K : Acquisition of
susceptibility to hepatitis C virus replication in
HepG2 cells by fusion with primary human
hepatocytes : Establishment of a quantitative
assay for hepatitis C virus infectivity in a cell
culture system. *Hepatology.* 34 : 566–572,
2001
- 41) Kato T, Furusaka A, Miyamoto M, Date
T, Yasui K, Hiramoto J, Nagayama K, Tanaka
T, Wakita T : Sequence analysis of hepatitis C
virus isolated from a fulminant hepatitis
patient. *J. Med. Virol.* 64 : 334–339, 2001
- 42) Hanaue N, Ogata A, Terado M, Endo T,
Makiura T, Hirafuji M, Yasui K, Nagashima
K, Tashiro K, Minami M : Selegiline effects on
bradykinesia and dopamine levels in a rat
model of Parkinsons disease induced by the
Japanese encephalitis virus. *Biogenic
Amines.* 16 : 523–530, 2001
- 43) Shishido-Hara Y, Hara Y, Larson T, Yasui
K, Nagashima K, Stoner GL : 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
- 44) Suzuki T, Ogata A, Tashiro K, Nagashima
K, Tamura M, Yasui K, Nishihara J : Japanese
encephalitis virus up-regulates expression of
macrophage migration inhibitory factor (MIF)
mRNA in the mouse brain. *Biochi. Biophys.
Acta.* 1517 : 100–106, 2000

- 45) Yasui K : DNA vaccines. *Bio Clinica*, 15 : 524–528, 2000
- 46) Nishida Y, Sodeyama N, Toru Y, Toru S, Kitamoto T, Mizusawa H: Sporadic Creutzfeldt – Jakob disease with codon 219 Lys/Lys homozygous polymorphism. (in preparation)
- 47) Fujimoto T, Nakamura T, Nishiura Y, Ichinose K, Furuya T, Shirabe S, Eguchi K : Up – regulation of interleukin – 12 receptor expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with HTLV – I – associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci*. 196 : 21–26, 2002
- 48) Kambara C, Nakamura T, Furuya T, Nishiura Y, Kawakami A, Ichinose K, Shirabe S, Eguchi K : Increased sialyl Lewis x antigen – positive cells mediated by HTLV – 1 infection in peripheral blood CD4 + T lymphocytes in patients with HTLV-1-associated myelopathy. *J Neuroimmunol*. 125 : 179-184, 2002
- 49) Miki K, Komase K, Mgone CS, Mgone JM, Takasu T, Mizutami T : Molecular analysis of measles virus genome derived from SSPE and acute measles patients in Papua New Guinea. *J Med Virol* 68 : 105 – 112, 2002
- 50) Mgone CS, Mgone JM, Takasu T, Miki K, Kawamishi R, Asuo PG, Kono J, Komase K, Alpers MP : Clinical Presentation of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in Papua New Guinea. *Trop Med Intern Health* (in press)
- 51) Takasu T, Mgone JM, Mgone CS, Miki K, Komase K, Nmae H, Saito Y, Kokubun Y, Nishimura T, Kawanishi R, Mizutami T, Markus TJ, Kono J, Asuo PG, Alpers MP : A continuing high incidence of subacute sclerosing panencephalities (SSPE) in the Eastern Highlands of Papua New Guinea. (submitted)
- 52) Mawrin C, Lins H, Koenig B, Heinrichs T, Murayama S, Kirches E, Boltze C, Dietzmann K : Spatial and temporal disease progression of adult-onset subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology* 58 : 1568 – 1571, 2002
- 53) Tomoda A, Shiraishi S, Hosoya M, Hamada A, Miike T : Combined treatment with interferon- α and ribavirin for SSPE. *Pediatr Neurol*. 24 : 54–59, 2001
- 54) Hosoya M, Shigeta S, Tomoda A, et al. : High-dose intravenous ribavirin therapy for subacute sclerosing panencephalitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 45 : 943 – 945, 2001
- 55) Nakajima M, Yamada T, Kusuhara T, Furukawa H, Takahashi Y, Kataoka Y, Doh – ura K : Returned cognition after quinacrine in patients with Creutzfeldt – Jakob disease. *Ann Neurol*. 52 (suppl) : S68. 2002
- 56) Akemi Tomoda, Keiko Nomura, Seiji Shiraishi, Akinobu Hamada, Takafumi Ohmura, Mitsuaki Hosoya, Teruhisa Miike, Yukio Sawaishi, Hiroshi Kimura, Hiroshi Takashima, Yoshihiro Tohda, Kenji Mori, Zenichiro Kato, Ai Fukushima, Hisanori Nishio, Akio Nezu, and Kenji Nihei : Trial of intraventricular ribavirin therapy for subacute sclerosing panencephalitis in Japan. *Brain & Development*. 27 : 514-517, 2003.
- 57) Furukawa H, Doh-ura K, Okuwaki R et al. : A pitfall in diagnosis of human prion diseases using detection of protease-resistant prion protein in urine.: Contamination with bacterial outer membrane protein., in submission.
- 58) Gombojaz A., Shimauchi I., Horiuchi M., Ishiguro N, Shinagawa M., Kitamoto T., Miyoshi I., Mohri S. and Takata M.: Susceptibility of Transgenic Mice Expressing Chimeric Sheep, Bovine and Human PrP Genes to Sheep Scrapie. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 65(3):341-347, 2003
- 59) Hachiya NS, Sakasegawa Y, Kaneko K: Therapeutic approaches in prion disease. *J*