

- 的性質。第 50 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2002
- 364) 佐伯圭一：プリオンの分子生物学。第 13 回日本生体防御学会学術集会シンポジウム、2002
- 365) 佐伯圭一：プリオンの分子生物学。第 6 回日本神経ウイルス研究会研究集会基調公演、2002
- 366) 佐伯圭一：プリオン蛋白質の機能と免疫学。第 14 回獣医免疫研究会シンポジウム、2002
- 367) 佐伯圭一：動物の検疫および水際対策。日本水産学会水産環境保全委員会研究会、2002
- 368) 作道章一，李得燦，佐伯圭一，井上敬一，松本芳嗣，糸原重美，小野寺節。アポトーシス関連遺伝子の導入による不死化プリオンレス神経細胞死の解析。第 157 回日仏生物学会、2002
- 369) 作道章一，李得燦，佐伯圭一，糸原重美，松本芳嗣，小野寺節。アポトーシス抑制因子 Bcl-2 family, Superoxide dismutase (SOD) 遺伝子およびプリオン遺伝子の導入による不死化プリオンレス神経細胞死の解析。133 回日本獣医学会学術集会、2002
- 370) 作道章一，李得燦，佐伯圭一，井上敬一，松本芳嗣，糸原重美，小野寺節。不死化プリオンレス神経細胞株を用いた正常型プリオン蛋白質の機能解析。生体防御学会懇親セミナー、2002
- 371) 作道章一，李得燦，佐伯圭一，糸原重美，松本芳嗣，小野寺節。プリオン遺伝子欠損神経細胞株における血清除去誘導細胞死の解析。第 6 回日本神経ウイルス研究会研究集会、2002
- 372) 西村拓也，李得燦，作道章一，佐伯圭一，松本芳嗣，小野寺節。R1kn 型 Prnp 0/0 マウス由来小脳神経細胞の銅、マンガン感受性について。第 6 回日本神経ウイルス研究会集会、2002
- 373) 徐聖旭，神山垣夫，佐多徹太郎，松田潤一郎，山田章雄，桑原正貴，局博一，遠藤秀紀，糸原重美，佐伯圭一，松本芳嗣，小野寺節。シロオリックス PrP 遺伝子を有する Tg マウスにおけるプリオン高感受性及び過発現による心臓異常。第 6 回日本神経ウイルス研究会集会、2002
- 374) 毛利資郎：ヒト・プリオン高感受性マウスの開発。第 49 回日本実験動物学会シンポジウム（名古屋市），23 May 2002
- 375) 友田明美，野村恵子，白石晴士，三池輝久，濱田哲暢，細矢光亮。亜急性硬化性全脳炎に対する ribavirin 併用療法に関する全国調査。第 44 回日本小児神経学会総会（仙台），2002
- 376) 野村恵子，友田明美，白石晴士，三池輝久，濱田哲暢，細矢光亮。亜急性硬化性全脳炎に対する ribavirin 強化療法の試み。第 44 回日本小児神経学会総会（仙台），2002
- 377) 細矢光亮、友田明美：亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) に対する ribavirin 療法の試み。第 105 回 日本小児科学会学術集会。分野別シンポジウム—小児期中枢神経系感染症
- 378) 市山高志：シンポジウム。中枢神経系炎症性疾患におけるサイトカイン動態。第 105 回日本小児科学会学術集会。名古屋。2002. 4. 19-21.
- 379) 市山高志、伊住浩史、加藤光広、小沢浩、沢石由記夫、古川 漸：急性散在性脳脊髄炎における髄液中サイトカインの検討。第 44 回日本小児神経学会。仙台。2002. 6. 27-29.
- 380) 市山高志、伊住浩史、藤原元紀、松原知代、古川 漸：免疫グロブリン製剤の抗炎症作用-NF-kappaB 活性化抑制作用-。第 22 回日本川崎病研究会。北九州。2002. 9. 27-28.
- 381) 市山高志、伊住浩史、庄司紘史、加藤光広、小沢 浩、沢石由記夫、古川 漸：急性散在性脳脊髄炎における髄液中サイト

カインの検討. 第7回日本神経感染症研究会. 東京. 2002. 10. 4-5.

382) 市山高志、長谷川俊史、松原知代、古川 漸: 末梢血免疫担当細胞におけるプランルカスト水和物の抗炎症作用. 第39回日本小児アレルギー学会. 盛岡. 2002. 11. 1-2.

383) 市山高志、伊住浩史、藤原元紀、松原知代、古川 漸: 免疫グロブリン製剤の抗炎症作用-NF- $\kappa$ B 活性化抑制作用-. 第34回日本小児感染症学会. 札幌. 2002. 11. 8-9.

384) 市山高志、長谷川俊史、松原知代、古川 漸: ヒト単球系細胞におけるモンテルカストの抗炎症作用-NF- $\kappa$ B 活性化抑制作用-. 第52回日本アレルギー学会. 横浜. 2002. 11. 28-30.

385) 清水透子他: SSPE 患者における髄液中抗 CD9 抗体の推移. 第14回日本神経免疫学会総会 2002. March 東京

386) 清水透子他: 髄液中抗 CD9 抗体の病的意義の検討. 第43回日本神経学会総会 2002 May 札幌

387) 扇本真治、扇本かおり、庵原俊昭、堀田博: 麻疹ウイルスワクチン株と野生株の免疫担当細胞での増殖の比較. 第50回日本ウイルス学会学術集会 (札幌)、2002年

388) 宍戸-原 由紀子、保井 孝太郎: JC ウイルスの major カプシド蛋白 VP1 と minor カプシド蛋白 VP2/VP3 は協調して核移行し、核膜付近で効率よくウイルス粒子を形成する. 第50回日本ウイルス学会 平成14年 (2002年) 10月 札幌

389) 宍戸-原 由紀子、市野瀬 志津子、樋口 佳代子、保井 孝太郎、原 嘉信: 進行性多巣性白質脳症の oligodendrocyte 核内では、JC ウイルスが核膜付近の不連続な領域域で複製している. 第43回日本神経病理学会 平成14年(2002年)5月 東京

390) 岡田 由紀、澤 洋文、遠藤 秀一、大場 靖子、西原 広史、田中 伸哉、長嶋 和郎: JC virus (JCV) agnoprotien の

発現と機能に関する研究. 第90回日本病理学会、2001年、東京

391) 林 宏恵、鈴木 聡子、駒込 理佳、西原 広史、大西 晶子、田中 伸哉、澤 洋文、長嶋 和郎: JC virus T 抗原と t 抗原の局在と機能の解析. 第42回 日本神経病理学会総会学術研究会、2001年、東京

392) 遠藤 秀一、岡田 由紀、澤 洋文、大場 靖子、田中 伸哉、長嶋 和郎: JC virus (JCV) agnoprotein の細胞内局在および tubulin との結合. 第49回 日本ウイルス学会、2001年、大阪

393) 澤 洋文、鈴木 聡子、駒込 理佳、岡田 由紀、田中 伸哉、長嶋 和郎: JC virus の細胞への吸着及び侵入に関する検討. 第49回 日本ウイルス学会、2001年、大阪

394) 岡田 由紀、澤 洋文、遠藤 秀一、大場 靖子、田中 伸哉、長嶋 和郎: JC virus (JCV) agnoprotien の機能に関する検討. 第34回北海道病理談話会 病理分科会、2001年、札幌

395) 駒込 理佳、西原 広史、田中 伸哉、澤 洋文、長嶋 和郎: JC virus capsid protien VP1 の糖脂質、糖蛋白質への結合. 第24回 日本分子生物学会、2001年、横浜

396) 逸見 千寿香、岩田 博司、駒込 理佳、佐藤 真実、田中 伸哉、澤 洋文、長嶋 和郎: JC virus (JCV) VP1 による外来遺伝子 packaging 効率の検討. 第24回 日本分子生物学会、2001年、横浜

397) 遠藤 秀一、岡田 由紀、澤 洋文、大場 靖子、田中 伸哉、長嶋 和郎: JC virus (JCV) agnoprotein は tubulin 結合蛋白質である. 第24回 日本分子生物学会、2001年、横浜

398) 岡田 由紀、澤 洋文、遠藤 秀一、田中 伸哉、梅村 孝司、長嶋 和郎: JC virus (JCV) agnoprotien の核移行の検討. 第24回 日本分子生物学会、2001年、横浜

399) 岡田 由紀、澤 洋文、遠藤 秀一、

田中 伸哉、梅村 孝司、長嶋 和郎：JC virus (JCV) agnoprotein (agno)の核内外移行シグナルとリン酸化部位の同定。第37回日本ウイルス学会 北海道支部会総会、2001年、札幌

400) 岡田 由紀、澤 洋文、高井 裕之、原田 直樹、門内 由美、渡部 美穂、長嶋 和郎、池田 恭治、本山 昇：Chk2ノックアウトマウスにおける自然発癌の解析。第61回日本癌学会、2002年、東京

401) 岩田 博司、大場 靖子、澤 洋文、長嶋 和郎：神経系特異的な複製活性を示すJCウイルスDNA増幅機構の解明。第75回日本生化学会、2002年、京都

402) 仙葉 眞吾、逸見 千寿香、岡田 由紀、遠藤 秀一、佐藤 眞実、澤 洋文、長嶋 和郎：JCウイルスvirion形成におけるAgnoproteinの機能の解析。第75回日本生化学会、2002年、京都

403) 仙葉 眞吾、澤 洋文、岡田 由紀、長嶋 和郎：JCウイルス転写調節領域に結合する神経系細胞特異的蛋白質の同定。第50回日本ウイルス学会、2002年、札幌

404) 岡田 由紀、澤 洋文、大場 靖子、遠藤 秀一、田中 伸哉、長嶋 和郎：JCウイルス agnoprotein の局在とウイルス粒子の細胞内輸送に関する検討。第50回日本ウイルス学会、2002年、札幌

405) 岡田 由紀、澤 洋文、大場 靖子、遠藤 秀一、田中 伸哉、長嶋 和郎：JCウイルス agnoprotein の局在とウイルス粒子の細胞内輸送に関する検討。第6回日本神経ウイルス研究会、2002年、静岡

406) 岡田 由紀、澤 洋文、高井 裕之、原田 直樹、門内 有美、渡部 美穂、長嶋 和郎、池田 恭治、本山 昇：Chk2ノックアウトによるマウスにおける自然発癌の解析。第61回日本癌学会総会 2002年、東京

407) 逸見 千寿香、岩田 博司、駒込 理佳、佐藤 眞実、田中 伸哉、澤 洋文、長嶋和郎：吸着阻害活性を指標とした JC

virus 認識膜タンパクの同定。第25回日本分子生物学会、2002年、横浜

408) 山本 晋、岩田 博司、澤 洋文、長嶋 和郎：定量的 real time RT-PCR法を用いたJCウイルス蛋白 mRNAの発現量の経時的検討。第38回日本ウイルス学会 北海道支部会総会、2002年、札幌

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

1) 長嶋和郎：JCウイルス agnoを対象としたPMLの治療。(特願2001-356836号)

2) 工藤幸司、澤田徹、堂浦克美：プリオン蛋白蓄積性疾患の診断プローブおよび治療薬ならびにプリオン蛋白の染色剤。(PCT/JP03/11056, 2003年8月)

3) 堂浦克美、久保郁子：病原性プリオンタンパク質生成阻害剤およびその使用方法。(特願2002-265321, 2002年9月)

4) 竹中繁織、野島高彦、大塚圭一、堂浦克美：異常プリオンの電気化学的検出方法。(特願2004-287562, 2004年9月)

5) 横田博、堂浦克美：体外診断キット及び体外診断方法。(特願2004-216510, 2004年7月)

6) 長嶋和郎：JCウイルスのアグノタンパク質に対する siRNA、およびそれを含有してなる医薬組成物。(特願2004-153170号)

7) 長嶋和郎：JCウイルスのVP-1に対する siRNA、およびそれを含有してなる医薬組成物。(特願2004-153243号)

8) 長嶋和郎：JCウイルスの粒子形成阻害剤。(特願2004-165083号)

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

# 分担研究報告

## 平成16年度分担研究報告

### 調査個人票をもとにしたクロイツフェルト・ヤコブ病のサーベイランス結果

班 員：中村 好一（自治医科大学地域医療学センター・公衆衛生学）  
研究協力者：渡邊 至（自治医科大学地域医療学センター・公衆衛生学）  
班 員：山田 正仁（金沢大学・大学院医・脳老化・神経病態学）  
班 長：水澤 英洋（東京医科歯科大学・大学院医・脳神経機能病態学）

#### 〔研究要旨〕

特定疾患治療研究事業において添付される臨床調査個人票の研究目的での利用が1999年度より可能となったことを背景に、クロイツフェルト・ヤコブ病の発生状況に関して、臨床調査個人票を基に訪問調査を行い、詳しい情報を得るサーベイランスが開始された。本研究ではこのサーベイランス結果について報告する。1999年4月から2004年9月までに全国で新規罹患として577人（男240人(42%)、女337人(58%)）が登録され、このうち455人(79%)が孤発性、46人(8%)が家族性、51人(9%)が硬膜移植歴を有するものであったが、変異型CJDは認められなかった。

### CJD サーベイランスにおける問題例：わが国における変異型 CJD 疑い例 および孤発性 CJD 診断困難例の検討

班 員：山田 正仁（金沢大学・大学院医・脳老化・神経病態（神経内科））  
研究協力者：浜口 毅（金沢大学・大学院医・脳老化・神経病態（神経内科））  
班 員：中村 好一（自治医科大学・医・公衆衛生学）  
研究協力者：佐藤 猛（国立精神・神経センター国府台病院）  
研究協力者：北本 哲之（東北大学・大学院医・病態神経）  
研究協力者：立石 潤（老人保健施設・春風）  
研究協力者：森若 文雄（北海道医療大学・心理学・言語聴覚療法）  
研究協力者：志賀 裕正（東北大学・大学院医・神経内科）  
研究協力者：袖山 信幸（東京医科歯科大学・大学院医歯・脳神経機能病態（神経内科））  
研究協力者：村山 繁雄（東京都老人総合研究所・神経病理部門）  
研究協力者：黒岩 義之（横浜市立大学・医・神経内科）  
研究協力者：西澤 正豊（新潟大学・脳研究所・神経内科）  
研究協力者：葛原 茂樹（三重大学・医・神経内科）  
研究協力者：武田 雅俊（大阪大学・大学院医・精神医学）  
研究協力者：黒田 重利（岡山大学・大学院医歯・精神神経病態）  
研究協力者：村井 弘之（九州大学・大学院医・神経内科）  
班 長：水澤 英洋（東京医科歯科大学・大学院医歯・脳神経機能病態（神経内科））

## 〔研究要旨〕

CJD サーベイランスにおいて変異型 CJD (vCJD) の疑いにて緊急調査された症例の特徴を明らかにし、さらに vCJD との鑑別が問題となる孤発性 CJD (sCJD) 非典型例の臨床診断法を確立することを目的とした。平成 16 年 9 月までにサーベイランスを行った 648 例のうち、vCJD 疑いとの連絡にて緊急調査を行った例は 9 例で、vCJD が疑われた理由は、MRI 上の視床高信号や若年発症の精神神経症状であった。調査の結果 vCJD と判定された例はなかった。調査後の診断は、他のプリオン病 5 例 [内訳：sCJD 3 例 (うち視床型 2 例)、硬膜移植後 CJD 1 例、コドン 102 変異に伴う GSS 1 例]、Wernicke 脳症 1 例、脳幹脳炎の疑い 1 例、てんかん+悪性症候群 1 例、未確定 1 例であった。CJD サーベイランス委員会に登録された sCJD 465 例のうち病理学的な確定診断に至った 50 例について、臨床診断困難例の臨床病理学的特徴や検査所見を検討した。臨床的には診断基準上「診断不明」に分類された 3 例は、病理学的には MM2 皮質型 2 例、視床型 1 例であり、全例とも臨床症候が不足したため sCJD 診断基準を満たさなかった。臨床診断が「疑い例」であった 9 例は、病理学的には PrP 斑を伴う MM1 型 1 例、MM2 あるいはタイプ未確認の視床型 5 例、MM2 複合 (皮質-視床) 型 1 例、VV2 型 2 例であった。MM2 皮質型の 2 例は、頭部 MRI 拡散強調画像 (DWI) 上、皮質高信号を認めたが、視床型では全例で異常を認めなかった。髄液 14-3-3 蛋白は MM2 皮質型では上昇し、視床型では正常の場合と上昇している場合があった。MM1 型と VV2 型の症例は、髄液 14-3-3 蛋白高値と MRI 上の高信号を認めた。sCJD 非典型例の診断では、MRI DWI や髄液 14-3-3 蛋白が補助検査として有用であるが、MM2 視床型では MRI DWI 上も異常信号を認めず、また 14-3-3 蛋白も正常の場合があり、他の検査法 (脳機能画像上の両側視床の血流低下や糖代謝低下など) に注目する必要がある。

## クロイツフェルト・ヤコブ病の発症から脳波、脳 MRI、14-3-3 蛋白、NSE で異常が認められるまでの期間

研究協力者：袖山信幸 (東京医科歯科大脳神経病態学)  
班 長：水澤英洋 (東京医科歯科大脳神経病態学)  
班 員：中村好一 (自治医科大疫学・地域保健部門)  
班 員：山田正仁 (金沢大大学院脳老化・神経病態学)  
研究協力者：佐藤 猛 (東大和病院神経内科)  
研究協力者：北本哲之 (東北大大学院病態神経学)  
研究協力者：黒岩義之 (横浜市立大神経内科)  
研究協力者：森若文雄 (北海道医療大学心理学部言語聴覚療法学科)  
研究協力者：志賀裕正 (東北大神経内科)  
研究協力者：武田雅俊 (大阪大大学院神経機能医学)  
研究協力者：西澤正豊 (新潟大脳研究所神経内科)  
研究協力者：葛原茂樹 (三重大神経内科)  
研究協力者：黒田重利 (岡山大大学院精神神経病態学)  
研究協力者：村井弘之 (九州大大学院脳神経病研究施設神経内科)  
研究協力者：村山繁雄 (東京都老人総合研究所神経病理部門)  
研究協力者：立石 潤 (老人保健施設春風)  
班 員：堂浦克美 (東北大大学院プリオン蛋白分子解析分野)

#### 〔研究要旨〕

脳波、脳 MRI、脳脊髄液中の 14-3-3 蛋白と NSE はクロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)の診断に用いられている代表的な検査である。CJD は感染性のある疾患であり公衆衛生の立場から早期診断が重要である。CJD の診断における有用性を評価するために、CJD の発症から脳波、脳 MRI、14-3-3 蛋白、NSE で CJD に特徴的な異常が認められるまでの期間を検討した。対象は日本の CJD サーベイランス調査で possible 以上と判定された孤発性 CJD405 例と感染性 CJD52 例である。発症からこれらの 4 検査で異常が検出されるまでの期間を検索し、さらに発症後 1 月ごとの検査陽性数をそれぞれについて算出した。脳波、脳 MRI、14-3-3 蛋白、NSE で CJD の発症から異常が認められるまでの期間はそれぞれ 3.6、4.4、4.8、3.6 ヶ月であった。各群間に有意差はなかった。発症後 1 ヶ月ごとに見た検査陽性数は脳 MRI、14-3-3 蛋白、NSE では 1 ヶ月後に最大となったが、脳波では 2 ヶ月後に最大となった。異常の出現する機序の面からみると脳 MRI 上の異常が最も早期に検出可能と考えられるが、本研究では異常の検出までの期間の平均は脳波と NSE でより短い傾向が認められた。これには脳 MRI と 14-3-3 蛋白の感度が高いために経過の遅い非典型例も後期に異常を検出できることが影響していると考えられた。脳波は施行率や感度は高いが、他の検査より検査陽性数が最大となるのが遅くまた後期には PSD は消失することが知られている。また、施行率は脳波、脳 MRI が高かった。各検査にはそれぞれの利点があり CJD の信頼の置ける早期診断にはこの 4 検査を共に施行することが重要である。

## プリオン病の診断における MR 拡散強調像と ADC

班 員：湯浅 龍彦（国立精神神経センター国府台病院・神経内科）  
研究協力員：本田 聡（国立精神神経センター国府台病院・放射線科）  
研究協力員：袖山 信幸（東京医科歯科大学・大学院医・脳神経病態学）

プリオン病における ADC の変化について調べ、診断に対する有用性を検討する。

## プリオン病の患者・家族の心理社会的支援モデル

研究協力者：田村智英子（お茶の水女子大・大学院人間文化研究科・遺伝カウンセリング）

#### 〔研究要旨〕

プリオン病の患者・家族の心理社会的支援は重要である。本研究では、プリオン病の心理社会的支援の方法論やモデルについて、先行研究や過去の知見を調査、整理した。プリオン病の心理社会的支援モデルとして確立されたものは、調査した範囲では国際的にもまだ存在しないと思われた。そこで次に、他領域の概念を流用することを試みた。情報提供と心理社会的支援を統合した形で行う遺伝カウンセリングは、プリオン病支援のひとつのモデルとなりうるのではないかと思われる。また、喪失体験に対する心理的適応過程の支援を行うグリーフ・カウンセリング理論も、プリオン病支援に用いることができると考えられる。このほか、当事者団体の役割、今後の研究の方向性などについても考察する。

## Creutzfeldt-Jacob 病(CJD)にみられる周期的な頭部と眼球の向地性運動

班 員：黒岩 義之（横浜市立大学・神経内科）  
研究協力者：児矢野 繁（横浜市立大学・神経内科）  
研究協力者：戸田 宏幸（横浜市立大学・神経内科）  
研究協力者：鈴木 ゆめ（横浜市立大学・神経内科）

### 〔研究要旨〕

Creutzfeldt-Jacob 病 (CJD) にみられる周期的な頭部と眼球の向地性運動は発症後の臥床状態に認められる特徴的な運動である。この運動の症候学的な特徴と疾患との関連性を明らかにすることを目的とした。対象は、当院で臨床的に急速進行性痴呆、ミオクローヌス、脳波上 PSD を認め、probable CJD と診断された 4 症例（男性 2 人、女性 2 人、年齢 62~80 歳）。これら 4 例にみられた周期的な頭部と眼球の向地性運動について症候学的な特徴と疾患との関連性を文献的な考察を加えて検討した。周期的な頭部と眼球の向地性運動は頭部と眼球が一体となり周期的に左右に偏倚する異常運動である。この運動の特徴は、ある程度、CJD の病状が進行し臥床状態に至った患者に診られ、無動無言の時期に消失する。頭部の偏倚の程度は様々であるが、強い場合は体幹に対し 90 度近くまで回旋する場合がある。頭部・眼球の左右への回旋は自発的に認められ、その周期や、偏倚している持続時間は不定である。長時間の脳波記録において、偏倚の際、脳波に変化はみられない。などが挙げられる。過去の報告では、CJD で類似の症候の報告があるものの他の疾患による報告が極めて少ないため、CJD に特異的な臨床徴候と考えられ、本疾患の補助診断の一助になりえるものと考えられた。

## 8 ペプチド挿入変異を持つ、家族性クロイツフェルトヤコブ病

班 員：村山繁雄（東京都老人総合研究所老化臨床神経科学）  
班 員：山田正仁（金沢大学医学系大学院神経内科）  
研究協力者：斉藤祐子（東京都老人総合研究所老化臨床神経科学）  
研究協力者：清水 潤、星野将隆（東京大学大学院医学系研究科神経内科）  
研究協力者：佐々木健介（九州大学脳研究施設神経病理）  
研究協力者：高津成美（東京通信病院神経内科）  
研究協力者：小松崎ハ寿子（初石病院神経内科）  
研究協力者：高橋啓（東邦大学大橋病院病理）  
研究協力者：中野正剛、有馬邦正（国立精神神経センター武蔵病院精神科）  
研究協力者：原正道（横浜市立大学医学部病理）  
研究協力者：杉山直也、平安良雄（横浜市立大学医学部精神科）  
研究協力者：金渾一郎（国立精神神経センター武蔵病院神経内科）

### 〔研究要旨〕

目的：2 ペプチド挿入変異を、発端者は 5 リピート及び 7 リピートのふたつの過剰配列を呈し、残りの 2 症例は 5 リピートを呈する、家族性クロイツフェルトヤコブ病 (CJD) 家系を報告する。

対象：発端者 (II-13) は現在 63 歳男性 (CJD サーベイランス#149)。52 歳異常行動で発症。徐々に進行したが 63 歳時、自立歩行不可、発語はないが、言葉に反応し、ヒトを目でおいかけ、足で蹴る動



きはある。MRIはDWIで異常なく、脳室拡大と白質のT2高輝度のみ。髄液14-3-3蛋白陰性、脳波は軽度徐波化のみ。プリオン遺伝子129M/Mで、サーベイランス時はニカ所の施設でプリオン遺伝子変異なし。II-7は、1978年、高津ら、神経内科報告例で、死亡時42歳男性。経過1年4ヶ月で典型的CJDの診断。病理学的に、海綿状脳症に加え、広範な白質病変を認め、今回抗プリオン抗体免疫染色を行い、シナプス型で、小脳に粗大顆粒状沈着を確認した。II-11は死亡時51歳男性、神経学会地方会報告症例（大迫ら、臨床神経1993）。1年1ヶ月の経過でやはり典型的なCJDの経過。神経病理学的に、海綿状脳症に加え、後頭葉皮質直下白質の変性を認めた。今回抗プリオン抗体免疫染色を行い、II-7と同様の所見を認めた。II-5は死亡時70歳男性。64歳時言葉が出ないことで初発。記憶障害、意欲低下、パーキンソン症状が続発、67歳時、MMSE 15/30、MRI上は脳萎縮のみ、髄液14-3-3蛋白陰性、脳波上PSDなし。プリオン遺伝子変異は検出できず。69歳時MMSE 6/30。70歳時、車椅子受診、言語理解有り。翌日突然死。

方法：II-13、II-11、II-5に関し、プリオン遺伝子検索を再度試みた。

結果：II-11について、当初の解析結果より、5 octarepeat insert (ORI)が疑われる結果であることが判明した。II-7について再検し、やはり5ORIを認めた。II-13に関しては、5ORIと7ORIの二つのクローンが得られ、プライマーを変えても、PCRの方法を変えても、結果は変わらなかった。

考察：本家系については、主な変異は5ORIと思われるが、II-13の7ORIのクローンが常に出現する点は、somatic mosaicismの可能性がある。ORI変異は、短ければ典型的CJD、長ければ緩徐進行性痴呆の病態をとり、5ORIは境界になる。挿入数が個体内で変動する可能性についてさらに検討が必要と考える。5ORI家系では、本邦初家系、世界で3家系目である。本家系で、同じ変異で臨床像が異なる点の解析は、プリオン病発症機構の解明に、貢献する可能性がある。

## M232R 家族性 CJD の臨床像

研究協力者：志賀裕正（東北大学病院・神経内科）

研究協力者：菅野重範（東北大学病院・神経内科）

研究協力者：佐藤 滋（広南病院・神経内科）

研究協力者：糸山泰人（東北大学・大学院医・神経内科）

### 〔研究要旨〕

M232R変異を持つ家族性CJD (CJD232)の臨床像について、自験3例を含む19例について検討した。このうち2例はV180Iとの2重点変異を持つため解析対象から除外した。発症から無動性無言に陥る期間をみると8ヶ月以内に無動性無言になる群と12ヶ月経っても無動性無言にならない群が存在し、これらをそれぞれ急速進行群、緩徐進行群とし比較した。1例は無動性無言にいたる前に、発症7ヶ月後に心疾患により突然死しており、この症例は急速進行群、緩徐進行群いずれにも分類不能と判断した。11例が急速進行群に属し発症年齢 $63.1 \pm 6.8$ 歳、全例発症 $3.5 \pm 2.3$ ヶ月後にPSDが出現し、 $3.8 \pm 2.1$ ヶ月後に無動性無言となった。5例が緩徐進行群に属し発症年齢 $59.2 \pm 12.4$ 歳、1例のみが発症13ヶ月後にPSDが出現し、2例のみが発症18、28ヶ月後に無動性無言となった。PRNPは全例M232Rを持ち、codon 129はMet/Metであった。CJD232においては遺伝子型が全く同じでもMM1型孤発性CJDに類似するタイプとMM2-cortical型孤発性CJDに類似するタイプの2型が存在する。急速進行型：緩徐進行型 $\approx 2 : 1$ であり、緩徐進行型も例外的な症例ではない。CJD232には従来知られている急速進行型ばかりでなく緩徐進行型も存在することを認識する必要がある。

## プリオン病の神経病理 視床病変について

研究協力者：天野 直二（信州大学医学部精神医学教室）

### 〔研究要旨〕

プリオン病の神経病理の基本像は、神経網の海綿状変化、神経細胞の変性脱落、星形グリアの反応であり、プリオンの免疫組織による染色性が診断に大きく寄与する。また、家族性や感染性ではクル斑に似た特異なアミロイド斑が出現する。このような基本的な病理像は、脳の部位によりその病変に軽重がみられる。その中でも視床は大脳皮質と並んで病変が高度に進行する重要な神経核である。今回、プリオン病の視床病変において、大脳皮質との類似性、障害の程度、視床の各神経核における特徴、臨床症状への寄与を目的に各症例における比較検討を加えた。

今回は孤発性 18 例、家族性 8 例、感染性 1 例の剖検例で、主に乳頭体を通る断面の切片を中心に神経病理学的に詳細に観察した。その結果、視床病変はどの例でもみられ、一次性病変の基本像は大脳皮質と同様に海綿状変化、神経細胞の脱落、星形グリアの反応であったが、海綿状変化は少ないか少ないのを特徴とした。さらに線維性グリオシスは多くの症例で高度に認められた。また、視床病変は、神経細胞の脱落という視点では大脳皮質病変を凌駕することではなく、垂核による検討では、背内側核の障害が最も高度であり、外側核、非特殊核である正中中心核、後内側腹側核、後外側腹側核、正中核の順に障害される傾向にあった。一方、異常グリアの反応は視床全体にみられる傾向にあるが、背内側核を中心に大脳皮質より高度にみられる症例が多く、異常プリオンの沈着は視床においても初期から高度であり、その程度は視床の垂核の障害程度と平行し、P102L と P105L の家族例ではアミロイド斑は背内側核を中心に多数みられた。また、大脳皮質病変の極めて軽い症例では、視床の神経細胞の変性や消失はみられなくても異常グリアの反応がすでに十分に観察され、プリオン病の極めて初期においても視床病変が起きている可能性が指摘された。

## Creutzfeldt-Jakob 病の病理変化の部位別評価基準法と異常型プリオン蛋白のタイプ分類

研究協力者：佐々木 健介（九州大学・大学院医・神経病理）

研究協力者：岩城 徹（九州大学・大学院医・神経病理）

### 〔研究要旨〕

我が国における Creutzfeldt-Jakob 病（以下 CJD）の表現型の標準的変化とバリエーションを明らかにする目的で、部位別病理所見の半定量的評価基準を策定し、その有用性を検証した。まず、日本の CJD 症例の病態にあわせて新たに病理学的変化の半定量的評価基準を策定して、当施設に保存されている孤発性 CJD 剖検脳標本について神経細胞脱落とグリオシス、海綿状変化、プリオン蛋白沈着の程度を部位ごとに評価して、標準的病理学的変化のプロファイルを得た。病初期から高度な変性が見られた箇所は大脳皮質、線条体、視床および小脳で、海馬および脳幹部は比較的保たれており、一定の傾向がみられた。一方、橋核、線条体、小脳の病変は症例ごとのばらつきが大きかったが、その程度は罹病期間の長期化と脳重量の減少に比例する傾向が見られたため、病原因子の違いというよりも疾患の変性過程の進行度を反映していると考えられた。一部の症例で空胞周囲型のプリオン蛋白沈着

を認めたが、大部分はシナプス型であった。さらに凍結保存脳のある症例についてプリオン蛋白のタイプ分類を行ったが、視床型ヤコブ病 (MM2) 1 例以外は検討した範囲ですべてのサンプルで MM1 の性質を示した。病理学的変化の分布に関する今回の結果は、欧米の孤発性 CJD 症例について検討された報告にほぼ一致した。今後この解析法を用いてヒトプリオン病の病理所見のデータベースを拡大することによって、分類方法の妥当性の検証や非定型的症例の評価が容易になるものと考えられた。また、罹病期間の長期化にともない病変の強さが相関する橋核などの部位については、病態の進行にともなう神経細胞死の過程を検討するための候補部位になりうると考えられた。

## プリオン病に対する新しい治療戦略ーキナクリン経口投与変法と体内埋め込み型微量注入器具を用いたペントサンポリサルフェート脳室内投与療法

班 員：山田 達夫 (福岡大学内科学第五)  
班 員：堂浦 克美 (東北大学プリオン蛋白研究部門)  
研究協力者：福島 武雄 (福岡大学脳神経外科学)  
研究協力者：山本 正昭 (福岡大学脳神経外科学)  
研究協力者：坪井 義夫 (福岡大学内科学第五)  
研究協力者：藤木 富士夫 (福岡大学内科学第五)  
研究協力者：片岡 泰文 (福岡大学薬学疾患管理学)

### 〔研究要旨〕

クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)に代表されるプリオン病は、急性に進行する致死性のヒト海綿状脳症である。孤発性 CJD に加え、汚染硬膜の移植による医原性 CJD、変異型 CJD が発生する脅威が本邦にも存在し、有効な治療法の開発が急務となっている。昨年度我々の報告から抗マラリア薬であるキナクリン、キニーネは一過性で軽度ではあるが、臨床効果を示すことが明らかになった。一方で肝機能障害をはじめ無視できない副作用が約3分の2の症例に出現したことから治療プロトコルの再考が望まれた。今回、キナクリンによる肝障害を予防する目的でシメチジンを、脳内濃度を高める目的でベラパミルを加えた新しいプロトコールを作成した。キナクリン 300 mg/日、シメチジン 600 mg/日、ベラパミル 120 mg/日を1日3回に分けて経口または経管にて連日投与した。これまでに3例に施行したが1例は1ヶ月後に肝機能障害を認め中止、残る2例は12週の治療期間副作用なく完了した。キナクリン、ベラパミル、シメチジンの3剤併用療法の臨床改善効果は今回の検討では明らかではなかった。ペントサン・ポリサルフェート (PPS) は経口投与や静脈内投与では血液脳関門を通過せず、脳室内に直接投与する必要がある。PPS の脳室内持続投与法は、プリオン感染マウスにおける実験で発症を遅延させる効果が証明された。人プリオン病に対する臨床治験は2003年英国で変異型 CJD に対して同治療の1例目が行われて以降、現在までに10例のプリオン病患者に同治療が行われその評価中である。現在福岡大学で作成したプロトコールは、腹部皮下体内埋め込み型微量注入器具の留置及び脳室内カテーテルの留置手術を行い、術後8日目より PPS 投与を低濃度で開始し、漸増。維持量に到達後は、4週間毎に腹部皮下の微量注入器具中の薬液を新しい薬液に交換充填する。本邦では1例目の PPS の脳室内持続投与は孤発性 CJD の66歳女性例に行われた。治療開始は発症から9ヵ月後であった。PPS はプロトコールどおりに腹部に埋め込んだ持続注入ポンプから右側脳室に注入された。

手術後 1 週間はポンプに生食を満たし、頭部 CT で出血がないことを確認した後 PPS を低濃度よりはじめ、(1 $\mu$ g/kg/day, 50 $\mu$ g/day) 徐々に濃度を上げて 22 $\mu$ g/kg/day (1100 $\mu$ g/day)とした。現在同濃度にて維持療法中である。治療開始 2 ヶ月現在、明らかな臨床効果を示していない。一方で、血算、生化学、凝固検査、頭部 CT で副作用は認められない。PPS 脳室内持続投与法は抗プリオン作用の最も期待できる方法である。今後は経過の注意深い観察と、安全域を考えた濃度設定を検討する必要がある。

## クロイツフェルト・ヤコブ病の病態評価マーカーの検討と治療薬開発

研究協力者：調 漸（長崎大学・大学院医・神経病態制御学）

研究協力者：佐藤克也（長崎大学・大学院医・神経病態制御学）

研究協力者：江口勝美（長崎大学・大学院医・神経病態制御学）

研究協力者：片峰 茂（長崎大学・大学院医・感染分子病態学）

研究協力者：西田教行（長崎大学・大学院医・感染分子病態学）

研究協力者：丹羽正美（長崎大学・大学院医・神経感覚医学解析学）

研究協力者：片岡泰文（福岡大学・薬学部・薬学疾患管理学）

### 〔研究要旨〕

I. 病態評価マーカーの検討；クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）患者での髄液中の診断マーカーとしてNSE、S-100B蛋白、14-3-3蛋白など知られ、中でも14-3-3蛋白が有効とされてきた。我々はCJD患者におけるt-tauの診断及び病態評価における意義について検討した。

長崎大学でCJDと診断したCJD患者5例で発症又は入院時より3週間ごとにt-tau,リン酸化tau, NSE、S-100B蛋白、14-3-3蛋白を測定した。経過を観察した5例で同様な経過をとり、t-tauは発症初期1200-5000pg/mlだが、急激に上昇し6-12週後8000-20000 pg/mlとピークになり、13週後より低下傾向を示した。画像、その他のマーカーとの比較検討を行なった。

CJDの診断マーカーとしてt-tauは14-3-3蛋白よりも特異度、感度共に優れていた。t-tauの推移は検討できた全例で一峰性の経過を呈し、CJDの病態評価マーカーとなりうると考えられた。

II. 治療薬開発；既存薬剤の中でCJDの治療薬候補としてペントサンポリ硫酸（PPS）は感染実験で有効性が知られ、英国で脳内持続注入がヒトプリオン病患者に試みられている。我々はPPSがin vitro血液脳関門そこでPPSの低分子分画を分取し脳送達性の高い治療薬の創薬についての経過を報告する。我々が開発した血液脳関門モデルを用いた検討ではPPSはそのままの状態でも一部が血液脳関門を透過し得ることが示唆された。そこで、血液脳関門を透過し抗プリオン効果を発揮する分画を同定するために蛋白の分画に用いる限外濾過膜による透析法で低分子分画を分取した。その結果、複数の低分子分画が分取でき、プリオン持続感染細胞（GTFKとGT22L細胞）を用いて異常プリオンの産生抑制能とin vitro血液脳関門モデルでの脳移行性を検討した。

## アミロイド・イメージング化合物のプリオン病診断と治療への応用

分担研究者：堂浦 克美（東北大学・大学院医・プリオン蛋白分子解析）

研究協力者：石川 謙介（東北大学・大学院医・プリオン蛋白分子解析）

研究協力者：工藤 幸司（東北大学・先進医工学研究機構）

#### 〔研究要旨〕

プリオン病ハイリスク群の発症予防、さらには発症した患者の生命予後改善のためには治療法のみならず早期診断法の開発が急務であり、アミロイド画像化化合物を用いた核医学検査法による異常プリオン蛋白沈着画像化（プリオン・イメージング）を検討した。また、アミロイド結合化合物は抗プリオン作用を持つことが予想されたため、これらの化合物のプリオン病治療薬への応用についても検討した。

コンゴーレッドの類似化合物 BSB やチオフラビンの類似化合物 BTA-1、さらに 80 種以上におよぶ置換インデン環化合物についてプリオン・イメージングのスクリーニングを行った。プリオン病モデルマウスへ静脈内投与後に脳切片を作製し解析したところ、これらのプローブ化合物が末梢からの投与でも中枢神経系内に蓄積した斑状の異常プリオン蛋白沈着を *in vivo* で検出した。置換インデン環化合物は脳移行性が極めて良好で変異原性などの毒性が低いものが多く、実用化が期待される。

一方、200 種以上のアミロイド・イメージング化合物について、プリオン持続感染細胞における異常型プリオン蛋白の産生阻害を調べたところ、多数の化合物で極めて低濃度（IC50 が数ナノモルから数十ナノモル）での阻害効果を確認した。いくつかの化合物について、末梢静脈から少数回投与あるいは反復投与を行いモデル動物での治療効果を検討したところ、感染中期以降の治療開始にも関わらず有意な生存期間延長を確認した。これらの化合物は、本来の目的から考えて脳組織への移行が良好であることは勿論のこと、脳組織から迅速に消退するようにデザインされている。したがって、脳組織中でももう少し安定な化合物をデザインできれば、さらにすぐれた治療効果を期待できる。

## 人工合成硫酸化配糖体による PrP<sup>Sc</sup> の産生抑制

班 員：堀内 基広（北海道大学・大学院獣医・プリオン病）

研究協力者：山口 聡子（帯広畜産大学・獣医公衆衛生）

#### 〔研究要旨〕

硫酸ペントサン(PPS)や硫酸デキストラン(DS)、ヘパリンなどの硫酸化グリコサミノグリカン(GAGs)およびその類似体が、プリオン感染細胞において異常型プリオン蛋白質(PrP<sup>Sc</sup>)の産生を抑制すること、およびスクレイピー感染動物の潜伏期を延長することが報告がされている。硫酸化 GAGs ではすべての硫酸化部位が硫酸化されているのではなく、可能性のある部位がランダムに硫酸化されている。この性質は PrP<sup>Sc</sup> 産生抑制に関係する GAGs 構造の解明の障壁となっている。本研究では GAGs の PrP<sup>Sc</sup> 産生抑制に関する構造活性相関を解明する一助として、選択的に様々な位置を硫酸化した配糖体およびそのポリマーの PrP<sup>Sc</sup> 産生抑制効果をプリオン感染細胞を用いて調べた。使用した配糖体のうち、単量体の 4-sulfo-N-acetyl-glucosamine (4SGN)、ポリマー化した 4SGN、ポリマー化した 6-sulfo-N-glucosamine (6SGN)が 20 $\mu$ g/ml 以下の ED<sub>50</sub> で PrP<sup>Sc</sup> 産生を抑制した。配糖体の PrP<sup>Sc</sup> 産生抑制効果は長期間処理によりさらに明白となった。これらの化合物は細胞の正常型プリオン蛋白質の発現を減少させたが細胞の発育には影響しなかった。構造比較により、2 位に N-アセチル基と、4 位もしくは 6 位に硫酸基を同時に持つことが、PrP<sup>Sc</sup> 産生の抑制に関係することが示された。また、6SGN では一から三糖では抑制効果が見られず、ポリマーで抑制効果が見られたことから、6SGN の場合は多量体の形状が必要であることが示された。以上の結果は、人工的に硫酸化した配糖体およびそのポリマーは GAGs の構造活性相関の解析に加え、プリオン病治療薬の開発にも役立つことを示すものである。

## プリオン蛋白質関連神経細胞死抑制および細胞分化に関する研究

班 員：佐伯 圭一（東京大学・大学院農・応用免疫）  
研究協力者：西村 拓也（東京大学・大学院農・応用免疫）  
研究協力者：作道 章一（東京大学・大学院農・応用免疫）  
研究協力者：小野寺 節（東京大学・大学院農・応用免疫）

### 〔研究要旨〕

我々は、これまでにプリオン蛋白(PrP)の機能解析により PrP は神経細胞の生存維持に関わっていることを明らかにしてきた。プリオン蛋白(PrP)の機能としては、アポトーシス抑制に関係していることが明らかにされつつある。本研究ではこれまで老齢に伴う行動異常を引き起こす系統の PrP 遺伝子 (Prnp)欠損マウス(Rikn)より樹立した不死化神経細胞株(HpL3-4)を用いて研究を行ってきた。しかし、近年行動異常と PrP 様蛋白 Dpl の発現が PrP の機能を解析していく上で問題視されるようになった。そこで、新たに老齢に伴う行動異常を引き起こさない系統の Prnp 欠損マウス(Zrch1)より新たに不死化細胞株を樹立し、PrP の機能についてアポトーシス抑制能および神経分化能について解析を行なった。作製した神経様細胞(Npl2)およびグリア様細胞(Gpl1)において、血清除去培養条件において PrP 再発現によるアポトーシス抑制が認められた。一方で、Dpl 蛋白再発現によるアポトーシス抑制は認められなかった。Npl2 細胞において PrP 欠損細胞と比較して PrP 再発現細胞は、有意に強い突起の形成能(長さ、数)を示した。また PrP 遺伝子導入に伴い、細胞内の活性型 PKA の量の増加が観察された。以上の結果から、PrP は Npl2 および Gpl1 両細胞においてアポトーシス抑制的に働くことが示された。また、Dpl 蛋白はアポトーシス抑制には関与していないと考えられた。Npl2 細胞において PrP は神経突起形成を促進させることが明らかとなった。

## 膜貫通型プリオン蛋白の異常化

班 員：村本 環（東北大学・大学院医・CJD 早期診断・治療法開発分野）

### 〔研究要旨〕

プリオン蛋白の構造、膜局在と異常化能・プリオン形成能・神経変性形成能の関係を調べるために、膜貫通型プリオン蛋白（プリオン蛋白と膜貫通型蛋白の融合蛋白）をデザインし、培養細胞で発現した場合の異常化能、ラフト移行性を検証した。検討した膜貫通型プリオン蛋白はいずれもその一部がラフトへ移行し、野性型プリオン蛋白より低い効率ながらも異常化した。この結果から、今後、膜貫通型プリオン蛋白を発現するトランスジェニックマウスを作製し、同マウスにおけるプリオン病の表現型を解析することは可能かつ有意義であると考えられた。

## ヒト型異常プリオン蛋白に対するモノクローナル抗体作製(続報)

班 長: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機能病態学)

研究協力員:田中智之(堺市衛生研究所)

研究協力員:北元憲利(姫路工業大学環境人間学部)

班 員:毛利資郎(九州大学大学院動物実験施設実験動物学)

研究協力員:北本哲之(東北大学大学院医学系研究科病態神経学分野)

### 〔研究要旨〕

sCJD患者剖検脳から抽出したヒト型異常プリオン蛋白に対するモノクローナル抗体の作製を試みた。凍結切片による免疫染色、Western blotting によるスクリーニングの結果、#4KT34, #5KT55の2抗体が、可能性のある抗体として作製され、腹水化された。IgG サブクラスはいずれもIgG1であった。免疫染色陽性、Western blotting陰性のクローンも併せて作製された。これらの抗体について、エピトープの解析が進行中である。

## プリオン蛋白は N-末領域で宿主蛋白と結合する

班 員:坂口 末廣(長崎大学・大学院医歯薬・感染分子病態)

研究協力者:尹 載宇(長崎大学・大学院医歯薬・感染分子病態)

### 〔研究要旨〕

プリオン蛋白結合分子を同定するために、まず alkaline phosphatase (AP)-tag を有する PrP 融合蛋白 (AP-PrP) を作製し、神経細胞、繊維芽細胞、上皮細胞などの様々な培養細胞と反応させた。その結果、全ての細胞で強い AP 染色が観察された。この結果は、PrP との結合分子が様々な細胞で発現していることを示した。次に、PrP のどの領域がこの結合に関与しているのかを検討するために、PrP の様々な領域を欠損する融合蛋白を作製し同様な実験を行った。その結果、大変興味深いことに、細胞は球状の高次構造をとる C 末領域との融合蛋白では染色されず、特異的な構造を有しない N 末領域との融合蛋白にて染色された。また、N 末領域に存在するオクタペプチド・リピートを除いたアミノ酸残基 23-50 と 90-120 の二つの領域が結合に必要なことも分かった。

## 末梢組織生検によるプリオン病生前早期診断の試み

班 員:古川 ひさ子(長崎大学・大学院医・神経感覚薬理学)

研究協力者:片峰 茂(長崎大学・大学院医・感染分子解析学)

研究協力者:横山 隆(独立行政法人 動物衛生研究所・プリオン病研究センター)

研究協力者:丹羽 正美(長崎大学・大学院医・神経感覚薬理学)

#### 〔研究要旨〕

プリオン病確定診断には異常型プリオン蛋白(PrP<sup>Sc</sup>)の存在を証明することが必須であるが、非侵襲的にこれを証明する方法はいまだ確立されていない。我々は、神経組織を含み中枢神経に連絡する生検可能な器官として鋤鼻（じょび）器官に着目した。

鋤鼻器官 vomeronasal organ (VNO) は爬虫類をはじめとして広く哺乳類にもみられ、フェロモン受容器官として機能すると考えられている。解剖学的に VNO は鼻中隔前方に存在する管腔状の構造物で、内腔を覆う神経感覚上皮から発した鋤鼻神経は副嗅球でシナプスを形成した後に扁桃体に至る。しかしながらヒトをはじめとした

primate では VNO の存在・機能が明らかではないため、我々は牛海綿状脳症(BSE)の診断を目標として VNO 生検法の有用性に関する研究を開始した。

今年度我々は、ハムスターおよびマウスの VNO では脳に比べて 20-25%程度の正常型プリオン蛋白(PrP<sup>C</sup>)が発現していることを確認した。また、20 カ月齢ホルスタイン種ウシの VNO においても同様に高レベルな PrP<sup>C</sup> の発現を確認した。263K スクレイビー株感染ハムスターの一部では発症に先立って proteinase K(PK)抵抗性プリオン蛋白が蓄積していたことから、VNO 生検が BSE 生前診断に有用である可能性が示された。

## プリオン感染および治療に伴う遺伝子発現の解析

班 員：三好 一郎（名古屋市立大学・大学院医・実験動物研究教育センター）  
班 員：毛利 資郎（九州大学・大学院医・実験動物学）  
班 員：村本 環（東北大学・大学院医・創生応用研・プリオン蛋白）  
研究協力者：宮本 智美（名古屋市立大学・大学院医・実験動物研究教育センター）  
研究協力者：北本 哲之（東北大学・大学院医・創生応用研・プリオン蛋白）

#### 〔研究要旨〕

プリオンの伝達機構の解明あるいは早期診断法の開発の基盤となる分子レベルの情報収集を目的として、伝播実験で増殖した異常感染型プリオンタンパク(PrP<sup>Sc</sup>) が検出されるマウスの臓器を中心に（脳および脾臓、血液細胞）、マイクロアレイを用いて感染初期の遺伝子発現プロファイルを調べた。発現する遺伝子は脾臓、脳の順に経時的に変動し類似性が見られた。特に脾臓では 201 遺伝子が顕著な変動を示したが炎症や免疫反応に起因するものは 3%以下であった。また、同様に PrP<sup>Sc</sup> の増幅およびその阻害に関わる分子の情報を収集する目的で、プリオン持続感染マウス神経芽細胞腫株 ScN2a をコンゴレッド(CR)を用いて治療し遺伝子発現プロファイルを検索した。10000 遺伝子のうち顕著に変動した 96 遺伝子は、炎症や免疫反応、グリア細胞及びアストロサイト系の活性化に起因するものは少なかったが感染初期に脾臓や脳で見られたプロファイルとの共通性も少なく、PrP<sup>Sc</sup> の増幅機序と CR による PrP<sup>Sc</sup> への構造変換・増幅を阻止する機序との相違を示唆した。

## 正常プリオン蛋白質関連因子に関する研究

班 員：金子 清俊（国立精神・神経センター 神経研究所・疾病研究第七部）



研究協力者：逆瀬川裕二、八谷 如美（同・疾病研究第七部）

〔研究要旨〕

正常型プリオン蛋白質の生理的切断部位は、感染型プリオン蛋白質立体構造の鍵となるβシート領域と重なり、しかも極めて疎水性の高い部分に位置するため、正常プリオン蛋白質分解酵素がアクセスする際及び感染型プリオン蛋白質への変換の際に、何らかの分子シャペロン様分子の関与が示唆される。

昨年度までの検討により、我々は正常に folding された分子を認識し、それを unfold する活性を有するシャペロン様分子を同定し、“Unfoldin”と命名した。試験管内で Unfoldin がプリオン蛋白質、アミロイドβペプチド(1-42)、α-synuclein などのベータシート構造をもつ蛋白質を unfold できるか否か、トリプシン感受性を用いたアッセイ系により検討した結果、ATP 存在下において Unfoldin はこれら基質の高次構造を unfold し、トリプシン感受性をあげる事ができた。

### プリオン病モデルマウスとヒト・プリオン伝達試験（3）

班 員：毛利資郎（九州大学・大学院医・実験動物学）

班 員：三好一郎（名古屋市立大学・大学院医・実験動物研究教育センター）

研究協力者：松浦裕一（九州大学・大学院医・実験動物学）

研究協力者：北本哲之（東北大学・大学院医・創生応用医学）

〔研究要旨〕

われわれの開発したヒト/マウスキメラ型遺伝子ノックインプリオン病モデルマウス（Ki-ChM）はヒト・プリオンに対して高い感受性を示し、濾胞樹状細胞（FDC）における異常プリオン蛋白の早期沈着を検出することによって新しいバイオアッセイ法を提供した。しかしながら、Ki-ChM では伝達できないヒト由来プリオンがあることも判明した。それらのうち、硬膜移植後 CJD プラーク型プリオンについては Ki-Hu129M4R の過剰発現系により感染性を証明した。本年度は、ヒトのプリオン蛋白遺伝子多型であるコドン 129 がバリリン・ホモタイプ 2 型（VV2）の患者由来プリオンを新しく作製した 129 番目のコドンがバリリンの全ヒト型プリオン蛋白質を産生する遺伝子改変マウス（Ki-Hu129V）を用いて伝達試験をおこなった。

その結果、FDC に早期に異常なプリオン蛋白沈着が認められ、脳内接種による伝達も確認された。さらに、ヒト VV2 型プリオンの分子生物学的特性や病理組織学的所見も伝達されていることが判明した。

### 高齢牛に発生する全身性 AA アミロイドーシスの頻度に関する研究

研究協力者：池田修一、東城加奈、徳田隆彦（信州大学・医学部・第三内科）

研究協力者：付 笑影、樋口京一（信州大学・加齢研・脈管病態）

研究協力者：星井嘉信、石原得博（山口大学・医学部・病理）

研究協力者：松井高峯（帯広畜産大学・獣医学部・家畜病理）

研究協力者：山田 学（動物衛生研・病態病理）

〔研究要旨〕

マウスを用いた実験的アミロイドーシスは個体間で伝播することが証明されており、その機序はプリオン病に類似していると想定されている。ヒトの食品に関連したアミロイドーシスとして高齢牛に発生する全身性 AA アミロイドーシスがある。本研究では公的屠殺場で外見上は正常として屠殺された高齢牛（4～19 歳、平均 8 歳）302 頭の腎組織を採取して、Congo red 染色標本を偏光顕微鏡で観察して、アミロイド沈着の有無を検索した。15 頭にアミロイド沈着を認め、その頻度は 5%であった。アミロイド蛋白は生化学的ならびに免疫組織化学的検索により全例 AA と同定した。罹患牛 15 頭は解体時に内臓の肉眼的異常所見が見られ、基礎疾患として慢性炎症性疾患の存在が疑われた。

## 亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の現状

班 員 二瓶 健次（身体障害者療護施設 横浜らいず）  
班 員 飯沼 一字（東北大学・大学院医・小児科）  
班 員 大塚 頌子（岡山大学・発達神経病態学・小児神経科）

〔研究要旨〕

亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の親の会、特定疾患個人調査票を中心に SSPE の現状について調査した。（1）現在も SSPE の発症は年間 5-10 例見られている。（2）最近は以前に比べて SSPE の発症の性差が低下し、発症年齢は高くなる傾向がある。（3）症状発現から診断までに現在でも 2 ヶ月ほどを要しており、早期診断のために医療側への啓蒙が必要である。また、社会への認知度も低くあわせて社会への啓蒙も必要である。また、介護に関しても、長期にわたることが多く、家族の負担が多きいので、さらなる社会的援助が必要である。（4）死亡までの期間が平均 15 年であり、以前に比べて明らかな延長が見られ、これは現在試みられているインソイブレックス、インターフェロンなどの効果と考えられる。（5）本邦の SSPE 発症例の正確な把握のための努力を今後もしていかなければならない。

## 亜急性硬化性全脳炎に対するリバビリン治療に関する全国調査

研究協力者：野村 恵子（熊本大学・大学院医・発達小児科）  
研究協力者：田中 美保（熊本大学・大学院医・発達小児科）  
研究協力者：白石 晴士（熊本大学・大学院医・発達小児科）  
研究協力者：三池 輝久（熊本大学・大学院医・発達小児科）  
研究協力者：木村 昭彦（芦北学園発達医療センター・小児科）  
研究協力者：武下 草生子（横浜市立大学市民総合医療センター・小児科）  
研究協力者：神尾 範子（大阪大学・大学院医・小児科）  
研究協力者：小林 一彦（千葉県こども病院・神経科）  
研究協力者：須藤 章（北海道大学・大学院医・小児科）  
研究協力者：津留 陽（長崎大学・大学院医・小児科）

研究協力者：城間 直秀（琉球大学・大学院医・小児科）  
研究協力者：長門 雅子（天理よろづ相談所病院・小児科）

#### 〔研究要旨〕

亜急性硬化性全脳炎に対するリバビリン療法に関して、臨床改善度や治療中に認められた有害事象を中心に全国の 17 施設に対して臨床調査を行った。その結果、NDI 臨床症状スコア上改善 5 名、不変 3 名、増悪 7 名であった。今回の調査では、リバビリン治療を開始するまでの罹病期間と治療効果には明らかな相関は認められなかった。このことは、たとえ早期に治療開始できたとしても症状が急速に進行してしまい、効果を得られない症例があることを示唆している。治療効果の有無とは別に 1 歳未満で麻疹に罹患している症例は、麻疹自体は重症でないものの、調査時の臨床症状スコアが高い傾向にあった。治療中に認められた有害事象としては、傾眠傾向、発熱、口唇腫脹、全身倦怠感、肝機能障害、嘔気・嘔吐等があった。これらは重篤なものではなく、休薬や治療の終了に関連して改善した。基礎研究から、リバビリンは安全域が非常に狭いという特徴を持つことが分かっており、髄液中濃度のモニタリングや有害事象の把握につとめ、より安全で有効な治療の確立を目指す必要があると考えられた。

## 亜急性硬化性全脳炎における髄液中リバビリン濃度の解析

研究協力者：大村 孝文（熊本大学・病・薬剤部）  
研究協力者：野村 恵子（熊本大学・大学院医・発達小児科）  
研究協力者：田中 美保（熊本大学・大学院医・発達小児科）  
研究協力者：白石 晴士（熊本大学・大学院医・発達小児科）  
研究協力者：三池 輝久（熊本大学・大学院医・発達小児科）  
研究協力者：木村 昭彦（芦北学園発達医療センター・小児科）  
研究協力者：武下 草生子（横浜市立大学市民総合医療センター・小児科）  
研究協力者：神尾 範子（大阪大学・大学院医・小児科）  
研究協力者：小林 一彦（千葉県こども病院・神経科）  
研究協力者：須藤 章（北海道大学・大学院医・小児科）  
研究協力者：津留 陽（長崎大学・大学院医・小児科）  
研究協力者：城間 直秀（琉球大学・大学院医・小児科）  
研究協力者：長門 雅子（天理よろづ相談所病院・小児科）

#### 〔研究要旨〕

SSPE に対するリバビリン療法の有効性と安全性を高める目的で 9 施設に臨床調査を実施し、脳室内投与におけるリバビリンの薬物動態を解析してその適正投与方法について検討した。6 施設のべ 9 例のリバビリン濃度を解析した結果、平均分布容積は 0.0042 (L/kg)、平均クリアランスは 0.00197 (L/h/kg) で、ばらつき(CV%)はそれぞれ 54%、60%であり、消失半減期は約 1 時間 30 分と算出された。算出されたパラメータをもとに患者の髄液中リバビリン濃度推移を予測し、MIC を 50 $\mu$ g/mL と設定して Time above MIC の比を推定した。今回の調査では、髄液中リバビリン濃度の推移と NDI スコアと間に相関は見られなかったが、Time above MIC の比が高い症例ほど髄液中麻疹抗体価が改善する傾向が認められた。髄液中リバビリン濃度から患者パラメータを算出してリバビリンの濃度推移を予測し、患者個別の投与設計を立てることの有用性が示唆された。

## 亜急性硬化性全脳炎（SSPE）におけるリバビリン脳室内投与による薬理動態

班 員：細矢 光亮（福島県立医科大学・小児科）

### 〔研究要旨〕

亜急性硬化性全脳炎（SSPE）において、リバビリン 1mg/kg をオンマヤリザーバーより脳室内に単回投与した後の髄液中濃度を検討し、リバビリンの薬理動態を明らかにした。髄液中のリバビリン濃度は HPLC（high-performance liquid chromatography）法により測定した。髄液中のリバビリン代謝は one-compartment model に従った。投与直後の初期リバビリン濃度は 90–260 mg/ml、髄液におけるリバビリンの半減期は 2.2–8.3 時間と、症例により異なった薬理動態を示した。脳室容積と髄液代謝速度の個人差が髄液におけるリバビリンの薬理動態を規定しているものと考えられた。リバビリン脳室内持続投与を考えた場合、分布容積と代謝速度を求め、投与速度を設定することにより、目標濃度に維持できるものと思われた。

## 亜急性硬化性全脳炎における血清中サイトカイン解析

### -interleukin-6 及び interferon- $\gamma$ の検討-

班 員：市山 高志（山口大学・医学部・小児科）

班 員：高須 俊明（日本大学・医学部・神経内科）

班 員：楠原 浩一（九州大学・大学院医学研究院・成長発達医学分野）

### 〔研究要旨〕

日本と亜急性硬化性全脳炎（SSPE）多発地域であるパプアニューギニア東部高地州の SSPE 患者の血清を用いて炎症の鋭敏なマーカーである interleukin-6（IL-6）と抗ウイルス作用を有する interferon  $\gamma$ （IFN $\gamma$ ）の 2 つのサイトカインを測定し免疫病態を解析した。日本の SSPE 児の 8 例中 4 例で IL-6 の上昇がみられたが、これら 4 例中 1 例しか IFN $\gamma$  の上昇がみられなかった。パプアニューギニア東部高地州の SSPE 児の 27 例中 8 例で IL-6 の上昇がみられたが、これら 8 例中 1 例しか IFN $\gamma$  の上昇がみられなかった。一般にウイルス感染症では IL-6 上昇と IFN $\gamma$  上昇を高率に認める。一方、SSPE 患者では、IL-6 上昇時でも IFN $\gamma$  の上昇は認めなかった。IFN $\gamma$  低値はウイルス持続感染にとって好条件と示唆された。

## SSPE 発症後早期に分離した SSPE ウイルスのゲノムと蛋白質の解析

班 員：堀田 博（神戸大学・院医・微生物）

研究協力者：長野 基子（同）