

硬膜下出血 2 例、正常圧水頭症 1 例、脳出血脳室穿破後水頭症 1 例、外傷後急性硬膜下血腫 1 例、両側内頸動脈狭窄症 1 例、頭部皮下腫瘍 1 例、頸椎椎間板ヘルニア 1 例であった。術式は、開頭術 4 例(脳動脈瘤クリッピング 3 例、開頭血腫除去術 1 例)、VP シヤント術 2 例、穿孔血腫洗浄術 2 例、頭部皮下腫瘍除去術 1 例、内径動脈内膜除去術 1 例であり、手術は CJD 患者の手術後、CJD の診断がついて適切な消毒・滅菌処置が行われるまでの 10 日間に行われた。

それぞれの患者には、手術から 2 ヶ月以内に外来、または病棟で患者本人および家族に手術器具の汚染の可能性等をそれぞれの患者の主治医から説明が行われた。説明内容は厚生労働省からの指導に基づいて行われた。その後、外来にて[1]認知症状の有無、[2]精神的不安感の有無、[3]脳 MRI(脳 MRI 撮影が不可能な場合は脳 CT)、[4]脳波の 4 項目を診察あるいは検査にて定期的に確認した。

### C. 研究結果

外科手術から約 1 年半経過した時点で、11 例中 2 例は術後、当該病院以外の病院へ依頼して外来経過観察を続けている。[1]慢性硬膜下血腫 2 例のうち 1 例は血腫除去術後に血腫の再貯留が認められ、動揺性の認知症状を呈していたが、他の 10 例では認知症状は認められなかった。[2]当該病院へ依頼して経過観察を続けている患者を含め、いずれの患者も精神的不安感や病院への不信感を訴えてはいなかった。[3]VP シヤントや心臓ペース・メーカーを装着されている例を除く、7 例にて経過中に MRI を撮影していたが、いずれも異常所見を認めなかった。[4]1 例で脳波検査をしていたが異常所見を認めなかった。

### D. 考察

医原性 CJD に関する報告では 2000 年に硬膜移植(114 例)や成長ホルモン(139 例)に比べ、

ごく少数ではあるが 5 例の報告がなされている(Neurology, 2000; 55: 1075-81)。5 例のうち、4 例がイギリスの患者で 1 例がフランスの患者である。いずれの患者もプリオン蛋白に汚染されたと思われる器具により、脳の直接操作がなされたことが原因と考えられており、同様の機序として定位脳波検査による検査針の脳への直接浸潤によると思われる発症例が 2 例報告されている。脳外科手術から発症までの期間は平均 17 ヶ月(最長 28 ヶ月)となっており、硬膜移植例の平均 6 年(最長 18 年)や成長ホルモンの平均 12 年(最長 30 年)に比べて、短いのが特徴的である。今回の症例では、手術後約 18 ヶ月程度が経過しているが、未だに認知症状を呈している患者はおらず、感染の可能性の低さを示唆している可能性もある。しかし、開頭手術はあったものの、脳実質を操作する手術が無かったことより、過去の報告例との単純比較はできないと思われる。今後も注意深く認知症状の有無を確認してゆく必要がある。

今回の患者の精神状態に関しては、担当医からの告知の仕方や説明内容なども問題になるが、厚生労働省からの指導内容に沿って行われており、患者間で大きな違いは無かったものと思われる。その際、イギリスの「CJD Incidents Panel(CJD 事例委員会)」の作成したモデル・シナリオを基に感染の危険性を推測し、仮に脳組織に汚染された器具が繰り返し使用されたとしても 1 回の消毒で  $10^5$  の割合で汚染が減少した場合に、10 回器具を再使用する前に感染の危険性は無くなると仮定した。当該病院では 2 セットの器具を用いていたことより、可能性として感染の危険性が無くなる前に今回の全ての患者の手術が行われたことになる。そのため、プリオン病対応の消毒・滅菌法が施行されるまでに手術を受けた 11 人全ての患者へ感染の可能性を告げている。今後同様の事例が起こった際に、何名の患者へ暴露の事実の説明すべきかは、その都度十分な議論が必要である。

いずれの患者も外来にて心理的サポートや病院への不信感を呈していなかったことより、概ね良好にマネジメントが行われていると思われる。今後も必要に応じて、きめ細かいサポートを提供してゆく必要がある。

器具の消毒方法に関しては、CJD 患者であることが判明するまでの間はプレバキューム式 120°C30 分で行われており、感染判明後は 135°C22 分で行っている。これは WHO で推奨している耐熱性器具の消毒方法の 1 種であるプレバキューム式 120°C18 分を、当該病院のオートクレーブの仕様に合うように条件を厳しい方向に変えたものである。

現時点では認知症状を呈している患者がないため、検査の必要性に関しては十分な根拠がない。しかし、幸いにも術後の経過を含め、脳 MRI・脳 CT に関しては拒否的な患者はいなかった。また、CJD 様の変化を呈している例もなかった。脳波に関しては 1 例のみ同意を得られて、検査を行ったが異常がなかった。今後も、同意を得られる範囲で検査を行ってゆく予定である。

今後の課題としては、まずこれらの患者が将来外科手術を受ける必要が生じた際の医療機関の整備の必要性が挙げられる。現時点では症

状を呈していないものの前述のモデル・シナリオには潜伏期間後期中枢神経系組織感染の可能性もシミュレーションが行われており、その可能性は必ずしもゼロではない。また、最も重要な点として今後の同様な事例に対する対応システムを早急に整備する必要がある。

(※本研究は当該病院担当者との共同研究である)

## E. 結論

これまで我が国ではプリオン蛋白による手術器具汚染の問題は前例が無く、イギリスのインシデント・パネルを参考に対策を講じてきた。これまでのところ患者にもよく理解され順調に経過している。しかし、今後も同様な事例が起こる可能性があり、早急に対応システムを整備する必要がある。

## G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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症に関する調査研究班  
分担研究報告書

脊髄部手術後に発症した硬膜移植後クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)の  
2 剖検例の病理学的検討

分担研究者：葛原 茂樹 三重大・神経内科  
研究協力者：丹羽 篤 国立病院機構三重病院・神経内科  
研究協力者：加藤 保司 三重大・神経内科  
研究協力者：近藤 昌秀 国立病院機構三重病院・神経内科  
研究協力者：三室 摩耶 愛知医大・加齢医科学研究所  
研究協力者：小久保康昌 三重大・神経内科  
分担研究者：橋詰 良夫 愛知医大・加齢医科学研究所

### 研究要旨

脊髄部への硬膜移植後 CJD の剖検例は、報告されていない。われわれは、頸髄部への移植後に、大脳・小脳症状から発症した 2 例を経験したので報告する。症例 1 は 72 歳男性。頸髄腫瘍摘出術時に硬膜移植(Lyodura)が行われ、13 年後にふらつきが出現した。症例 2 は 68 歳女性。頸椎 OPLL(ossification of the posterior longitudinal ligament) の手術時に硬膜移植(Lyodura)が行われ、13 年後に霧視が出現した。2 例とも共通して痴呆が進行性に増悪し、ミオクローヌスや脳波にて PSD(periodic synchronous discharge)を伴った。症例 1 では MRI DWI(diffusion weighted image)にて大脳基底核や大脳白質に高信号を認めた。病理学的所見では 2 例とも共通して、大脳皮質に高度の神経細胞の脱落とグリオーシス、海綿状態を認めたが、それに比べて脳幹の変化はごく軽度であった。抗プリオン抗体では 2 例ともびまん性にシナプス型に染色された。初発症状に関連すると考えられる病変部位は、症例 1 は小脳、症例 2 は後頭葉であるが、いずれも硬膜を移植した部位からは離れていた。これらの所見からは、移植硬膜からの異常プリオンの感染は、隣接脳組織への直接に浸潤していく可能性よりも、CNS 全体に播種された後に親和性の高い脆弱部位から病変が広がっていく可能性を示唆する。

#### A. 研究目的

われわれは最近、脊髄部手術後に発症した、硬膜移植後 CJD の剖検例を 2 例経験し、その病理学的所見について検討したので報告する。

#### B. 研究方法

2 症例において剖検し、ホルマリン固定した

後、染色した。その病理所見から、異常プリオン感染の拡がり方について考察した。

#### C. 研究結果

症例 1 は 72 歳の男性。主訴はふらつき。既往歴・家族歴に特記事項はない。1987 年 2 月に他院にて頸髄腫瘍(右 C2 神経根、病理組織で

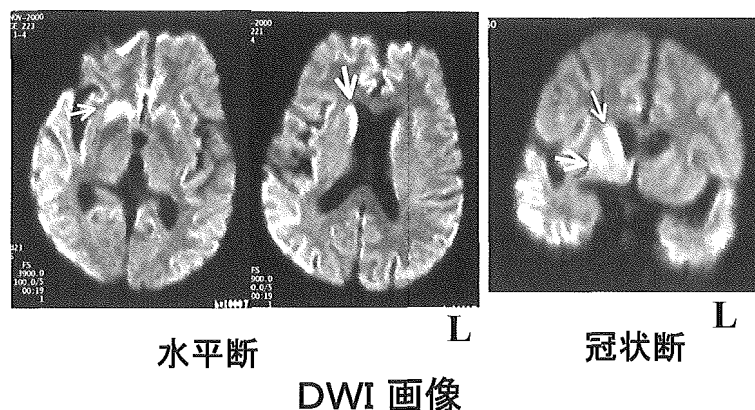


図1 頭部MRI(2000年11月,発症2ヵ月)

症例1の発症2ヶ月での頭部MRI DWI(diffusion weighted image).  
右の尾状核と被殻,そして右優位に大脳皮質に広範囲に高信号を認める.

は ganglio-neurinoma)の摘出術が行われ、この時に Lyodura が使用された。その13年後の2000年9月上旬にふらつきが出現した。同9月下旬には、指をソーセージと間違える、妻を母親と間違えるなどの症状があり、小脳性失調を認めた。同10月にはミオクローヌスと高度の認知症を認め、他院にてCJDと診断された。同11月(発症2ヵ月)の頭部MRI DWI所見(図1)では、右の尾状核と被殻、そして右優位に大脳皮質に広範囲に高信号を認めた。2001年1月には無動性無言となり、同2月に三重病院神経内科に転院した。血圧140/90mmHg、心拍96回、体温は正常。吸気時に強い呻吟呼吸を認めた。神経学的には無動性無言の状態で軽度のミオクローヌスを認め、四肢腱反射は低下し、筋トーンも低下していた。検査所見では、検血・生化学・検尿は正常で、髄液NSEは66ng/mlと高値を示した。髄液14-3-3蛋白は陰性。プリオン蛋白遺伝子解析では、codon 129はMet/Met、codon 219はGlu/Gluであった。脳波でPSDを認めた。2003年7月4日に死亡し、全経過は2年と10ヵ月であった。

症例2は67歳の女性。主訴は霧視。家族歴に特記事項はない。既往歴では、42歳時にうつ病で精神神経科に通院していた。1981年に頸椎OPLLの手術時にLyoduraが使用された。その13年後の1994年9月に霧視が出現した。

同10月に小脳性失調が出現し、歩行困難になった。同11月には嚥下構音障害が強くなり、歩行不能となり、除皮質肢位を示した。同11月17日に三重大神経内科に入院した。血圧・心拍数・体温は正常で、神経学的には呼びかけで開眼し、痛み刺激で顔をしかめた。右方注視時に水平性眼振、左上肢に除皮質肢位を認めた。四肢腱反射は正常で、筋トーンは亢進していた。両側のBabinski徴候が陽性であった。検査所見では検血・生化学・検尿・髄液一般は正常で、プリオン蛋白遺伝子解析ではcodon 129はMet/Met、codon 219はGlu/Gluであった。脳波でPSDを認めた。頭部CTでは急速に進行する脳全体の萎縮を認めた。1994年12月には右上肢にミオクローヌスを認め、無動性無言となった。1996年3月2日に死亡し、全経過は1年6ヵ月であった。

#### D. 考察

症例1の脳重は895gと、著明な萎縮を認めた(図2)。マクロでは、大脳は前頭葉から後頭葉まで広範囲かつ高度に萎縮していた。小脳は大脳に比べると萎縮はやや軽度であった。剖面では、大脳皮質は著明に萎縮し、褐色調であった。脳梁や大脳白質は萎縮し、脳室が著明に拡大していた。海馬は比較的良好に残存していた。大脳基底核や視床も萎縮し、褐色調であった。

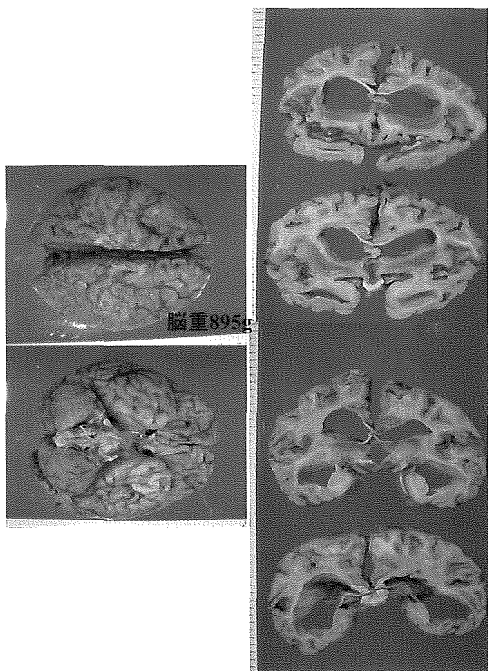


図 2

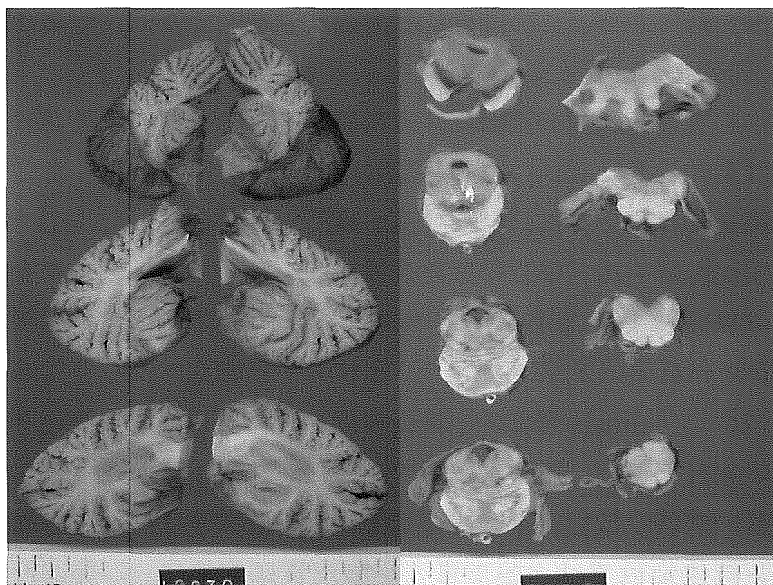


図 3

症例 1 のマクロ所見. 大脳は前頭葉から後頭葉まで広範囲かつ高度に萎縮. 小脳の萎縮はやや軽度. 断面では脳室は著明に拡大. 海馬はよく残存. 小脳は皮質・白質ともに萎縮. 脳幹では, 被蓋部は良く保たれていたが, 底部の萎縮が著明.

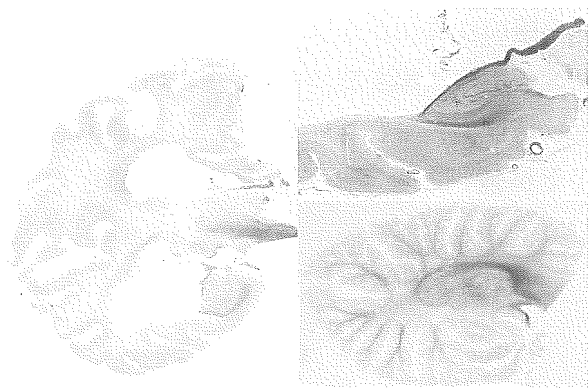


図 4 KB 染色

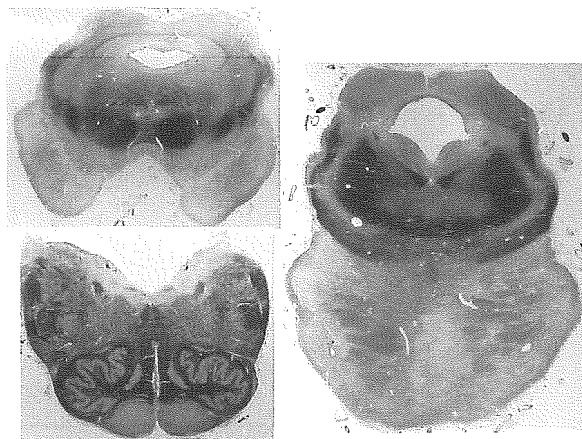


図 5KB 染色

症例 1 の KB 染色. 大脳や小脳の白質は広範で高度な脱髄を認めたが, 海馬は比較的保たれていた. 脳幹では大脳脚, 橋縦束, 延髄錐体, 被蓋部内側の脱髄が著明. 下オリーブ核は良く保たれていた.

小脳は皮質・白質ともに萎縮していた(図 3)。脳幹では、被蓋部は良く保たれていたが、底部の萎縮を著明に認めた。明らかな左右差は認められなかった。光顕の KB 染色では、大脳や小脳の白質は広範で高度な脱髄を認めたが、海馬は比較的保たれていた(図 4)。脳幹では、大脳脚、橋縦束、延髄錐体、被蓋部内側の脱髄が著明であったが、下オリーブ核などはよく保たれ

ていた(図 5)。部位別に変化の強弱がはっきりと異なっていたが、左右対称で、局所的な変化の違いは認めなかった。HE 染色では、大脳皮質では神経細胞の脱落が高度で、層構造は破壊され、基質は粗鬆化し、大部分が線維で置換されていた。Florid plaque は認めなかった。astrocyte や macrophage が著明に出現していた。残存する神経細胞は単純萎縮を示し、

ballooned neuron も散在していた。海馬は良く保たれており、この部位には海綿状態を認めた。被殻などの大脳基底核の変化も高度であった。小脳皮質の顆粒細胞層は高度に脱落し、分子層は萎縮し Purkinje 細胞の脱落と astroglia の出現を認めた。白質は髄鞘脱落が高度で基質の粗鬆化を認めた。中脳では動眼神経核の神経細胞は保たれていたが、黒質の神経細胞は脱落し free melanin を多数認めた。橋核の神経細胞は減少し、gliosis を認め、横行線維の脱落と、橋縦束有髄線維の脱落が著明であった。延髄下オリブ核の細胞はよく残存していた。抗プリオン抗体染色では大脳皮質・小脳皮質に広範に synaptic type のプリオン沈着を認めた。脳幹部での沈着は軽度であった。

症例2の脳重は1000gと高度の萎縮を認めた。割面で大脳は暗褐色で艶がなく、皮質は菲薄化し、白質は脆くて崩れやすくなっていた。海馬は比較的保たれていた。組織学的には、大脳皮質・基底核、小脳、脳幹の神経細胞の脱落が高度で、灰白質、白質ともに gliosis を伴う高度の海綿状態を認めた。Florid plaque は認めなかった。抗プリオン抗体染色では、大脳や小脳の皮

質に synaptic type のプリオン沈着を広範囲に認めた。

## E. 結論

脊髄部に Lyodura が移植された硬膜移植後 CJD の剖検例の報告はないが、剖検されていない報告は2例ある(表1)。Boutoleau ら(2003)の症例では、第11胸髄の外傷性骨折による完全対麻痺 Lyodura が使用され、その後上肢の失調と複視で発症している<sup>1)</sup>。また Lang ら(1995)の症例では、脊髄腫瘍で Lyodura が使用されたが、このとき腫瘍は取りきれず、その後進行する四肢麻痺、精神症状、言語障害で発症している<sup>2)</sup>。いずれも MRI DWI は施行されていない。われわれの症例1と症例2をまとめると、症例1は右第2頸髄神経根の腫瘍切除術で Lyodura が使用され、13年後にふらつきで発症し、MRI DWI では左右大脳基底核や大脳皮質に広範な高信号を認め、病理所見では大脳や小脳の皮質に広範な神経細胞の脱落、白質の高度な海綿状態を認めたが、脳幹では比較的变化は軽度で、左右対称であった。延髄右後部に変化が強いというような局所的な変化の強弱

表1

	Boutoleau 2003(仏)	Lang 1995(独)	症例1	症例2
手術名 場所	外傷性Th11 骨折による 完全対麻痺	頸髄腫瘍	頸髄腫瘍 (C1/2)	頸椎OPLL (C3~7)
初発症状	上肢の失調、 複視	進行性 四肢麻痺、 精神症状、 言語障害	ふらつき	霧視
頭部MRI DWI	未施行	未施行	左右大脳基底核・ 大脳皮質に広範な 高信号	未施行
病理所見	未施行	未施行	大脳皮質の広範な 神経細胞脱落、 白質の高度な 海綿状態、 脳幹は比較的变化 は軽度	大脳皮質・基底核、 小脳、脳幹の神経 細胞の脱落が高度、 灰白質・白質ともに グリオーシスを伴う 高度の海綿状変化

はなかった。症例 2 は頸椎 OPLL の手術時に Lyodura が使用され、霧視で発症した。病理所見では大脳皮質・基底核、小脳、脳幹の神経細胞の脱落が高度で、皮質・白質ともに gliosis を伴う高度の海綿状変化を認めた。脳幹のみに変化が強いということはない。初発症状に関連すると考えられる病変部位は、症例 1 は小脳、症例 2 は後頭葉だが、いずれも硬膜を移植した部位からは離れている。これらの所見からは、移植硬膜からの異常プリオンの感染は、隣接脳組織への直接に浸潤していく可能性よりも、中枢神経系全体に播種された後に、親和性の高い脆弱部位から病変が広がっていく可能性が示唆される。

[参考文献]

- 1) Boutoleau C, Guillon B, Martinez F, Vercelletto M, Faure A, and Fève JR : Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease subsequent to dural graft: persisting risk after 1987. Eur J Neurol. **10** : 521-523, 2003

- 2) Lang CJG, Schüler P, Engelhardt A, Spring A, and Brown P : Probable Creutzfeldt-Jakob disease after a cadaveric dural graft. Eur J Epidemiol. **11** : 79-81, 1995

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

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症に関する調査研究班  
分担研究報告書

## プリオン病における、プリオンの侵入経路に関する研究

分担研究者：村山 繁雄 東京都老人総合研究所老年病ゲノム・高齢者ブレインバンク  
研究協力者：斉藤 祐子 東京都老人医療センター剖検病理科  
研究協力者：初田 裕幸 東京都老人総合研究所老年病ゲノム・高齢者ブレインバンク  
研究協力者：佐藤 猛 大和会 東大和病院 神経内科

### 研究要旨

プリオン病において、プリオンが中枢神経系にどのような経路で侵入するかについては、定説がない。我々は、中心前回付近の髄膜腫切除時のヒト死体硬膜移植 18 年後に、プリオン病を発症した症例で、移植部位の局所症状で発症し、MRI 拡散強調画像上も同部に強調された病変を認め、それが広がる進展様式を示した例を既に報告した。今回その剖検例の検索で、手術による破壊病巣に、プリオン沈着が強く認められることを確認した。単例ではあるが、脳血液関門の破壊が、プリオン沈着及び進展に役割を果たした可能性が考えられ、今後硬膜移植症例を検索する時に、注意すべき点と考え、報告した。

### A. 研究目的

プリオン病において、中枢神経系にプリオンがどのように到達するかについては、定説がない。牛海綿状脳症においては、腸管及び口腔よりの、迷走神経並びに舌咽神経を介しての感染経路が重視され、迷走神経背側核、孤束核の病変が強調されている<sup>1)</sup>。しかし、孤発性の症例においては、このような特徴は一般に記載されていない。

従って、硬膜移植後のプリオン病は、プリオン病の侵入経路を検索するのに適した症例群と考えられる。これまでも、統計的にテント上とテント下での移植例においては、移植部位に一致する症状で発症することが多いことを報告してきた<sup>2)</sup>。しかしながら、今年度本学会でも報告された、脊髄部への硬膜移植後例の様に<sup>3)</sup>、明らかに関係がないと判断せざるを得ない症例も、存在する。

今回、硬膜移植部位より病変がはじまったと、症状並びに画像より考えざるを得ない症例<sup>4)</sup>を、神経病理学的に検索する機会を得、この問題に一部解答を与えうる所見を得たので報告する。

### B. 研究対象及び方法

症例：

主訴：左片麻痺、頭重感。

現病歴：56 歳時、右頭頂葉部の髄膜腫を摘出、その際 Lyodura(5×7cm)を移植した。術後、左不全片麻痺が後遺症として残っていたが、日常生活は自力で可能、18 年間症状の変化はなかった。74 歳時、左上肢の振戦に気づいた。1 ヶ月後、急にそれまで出来ていた左手で茶碗をもつ、簡単な動作などが出来なくなった。歩行も急速に出来なくなった。また不眠、頭重を伴った。2 ヶ月後、東大和病院神経内科を初診した。

神経学的所見：高次・認知機能は正常(改訂長



谷川式簡易知能スケール 30 点)、肢節運動失行なし、構成失行のみ認めた。脳神経系：眼球運動、顔面神経、発語等異常なし。四肢：左片麻痺、かろうじて指の屈曲可能。腱反射は左三頭筋で亢進、左上肢に散発性ミオクローヌスが見られた。感覚障害、小脳症状は無かった。両側上肢に筋強剛を認めた。

検査所見：頭部 MRI：T1, T2, FLAIR 異常信号が右頭頂部の手術創(拳大)に見られるが、その周辺には異常信号なし。しかし、拡散強調画像(DWI)では、手術部位の周辺の右頭頂葉の皮質に沿って、高信号域を認めた。脳波：右優位で全脳にわたって、基礎律動の不規則徐波化、4-5Hz の高振幅徐波群が不規則に出現(Periodic Synchronous Discharge: PSD の初期の疑い)。血清生化学・血算：特記事項なし。プリオン遺伝子解析：変異なし。コドン 129 M/M, 219 E/E。髄液検査：蛋白 40mg/dl、細胞数 2/3、NSE 35ng/ml↑、14-3-3 蛋白(+)であった。臨床経過：初診 10 日後再診時、左は完全片麻痺に悪化していた。初診 3 週間後、寝たきり、尿失禁状態となった。初診 4 週間後、体位変換時などに驚愕反射、左上肢のミオクローヌス(1Hz)著明、両上肢は屈曲拘縮、下肢は伸展、尖足位となった。表情は乏しく、記銘力、記憶力、計算力低下、眼球運動はフルで、指パターンの模倣は、右は可能だが、左は不能であった。2 ヶ月後、全てデイスポを用いることで、部分開腹術による胃瘻造設を行った。脳波で典型的 PSD、MRI DWI では高輝度は左半球皮質、両側線条体に広がっていた。初診 2 ヶ月半後無言無動状態に移行した。主たる介護者である夫が、主治医の意向をくみ、老人医療センタープリオン病外部剖検例取り扱い規約に従い、老人医療センター神経内科外来に紹介状を携え受診、患者本人のカルテを作成の上、剖検の意志を、自筆で記載いただいた。大和病院初診 1 年 4 ヶ月後、肺炎で自宅死亡、全経過 1 年半であった。大和病院死亡確認医より、老人医療センター神

経系当直に連絡が入り、院内症例として、剖検は翌日施行された。

方法：

剖検は、老人医療センタープリオン病剖検拡大プロトコールに基づき、死後時間 25:10 で行った。脳については、プリオン病専用で購入した電気鋸を用い、刃はデイスポとする前提で使用した。頭を含めた操作を、ビニール袋の中で行い、体液の飛散を防いだ。脊髓の採取は、脳を取り出した断端にペアンをかけ、根を切断しながら、できる限り下位までを採取するようにし、C2 レベルまでは採取できた。移植硬膜は、頭蓋骨に付着しており、これはホルマリンに固定した。また、下垂体は採取。また、Gasserian ganglion の採取を試みたが、結果的には失敗した。

腓腹神経、短腓骨筋は、左外踝外側の皮切により、両者ともに採取した。虫垂は、右下腹部の限定的皮切による開腹では同定できず、脾臓も、穿刺針による吸引では内容が得られなかった。従って、開口位において、口蓋扁桃を採取した。

脳は、右前頭極と側頭極をジップロックにダブルシールした上で、ドライアイスに入れて、発疱スチロールの容器にこれもダブルシールの上、東北大学大学院医学系研究科附属創生応用医学研究センタープリオン蛋白研究部門 CJD 早期診断・治療法開発分野(北本哲之教授)に送付した。

脳は中性ホルマリンに 2 週間以上固定後、剖検と同様の閉鎖システム下に、水洗いをしない状態で、センター剖検室で行った。右前頭葉の手術部位は、皮質欠損を示しており、この部位は 7mm の連続切片で評価するべく、標本作製した。標本は全てプラスチックカセットに入れ、99%蟻酸に 1 時間処理後、中性ホルマリンに再固定の上、老人総合研究所高齢者ブレインバンク染色室で、以後の標本作製を行った。

高齢者ブレインバンクの通常染色 5)に加え、塩酸オートクレーブ処理による前処理の上、抗

プリオン抗体(3F4)による免疫組織化学を行い評価した。

### C. 結果

#### 神経病理所見

肉眼所見：脳重量 860g。移植硬膜は、頭蓋に癒着していた(図 1)。径 1cm 程度の髄膜腫を、手術創及び、sphenoid ridge の二カ所に認めた。脳はいわゆるクルミ様を呈しており、手術創の部位では、皮質欠損を認めた(図 2)。大脳冠状断断面では、欠損部は皮質・白質に及んでいた(図 3)。大脳皮質の萎縮は高度かつびまん性であるが、海馬はよく保たれていた。大脳白質の変性も高度であった。基底核、視床も萎縮を示した。小脳皮質の萎縮も著明であった。一方脳幹は、比較的良好に保たれていた。

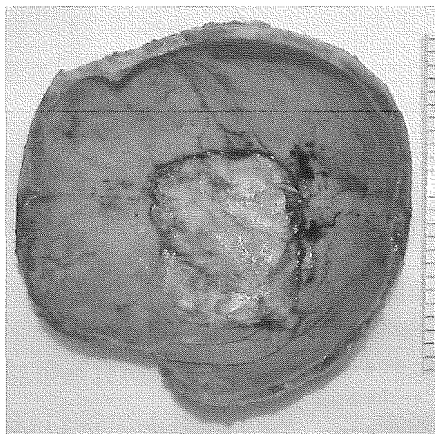


図 1 剖検時、移植硬膜は、頭蓋に癒着していた。

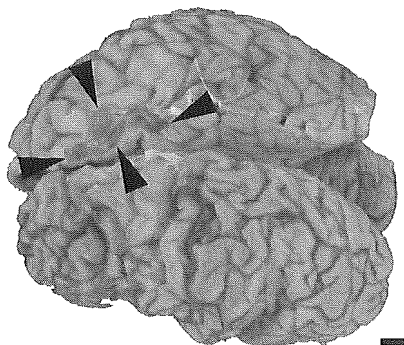


図 2 大脳の固定後上面からの観察。手術による皮質欠損(矢尻)。第一前頭葉から中心前回に比較的局限している(bar=1cm)。

組織学的所見：髄膜腫は、典型的病理像を呈しており、プリオン沈着は認めなかった。移植硬膜にもプリオン沈着は認めなかった。海馬は比較的良好に保たれており、軽度の海綿状変化を認めるのみであった(図 4)。3F4 免疫染色での不溶性プリオン( $Pr^{sc}$ )の沈着も軽度であった(図 5)。一方、海馬支脚からは細胞脱落、海綿状変化が極めて高度になり、シナプス型  $Pr^{sc}$  沈着を認め

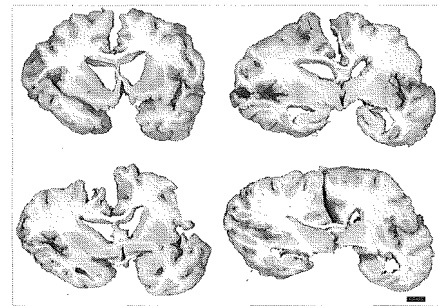


図 3 大脳冠状断像。皮質欠損は、前交連を通る断面から、尾状核尾部を通る断面までに、及んでいる(bar=1cm)。

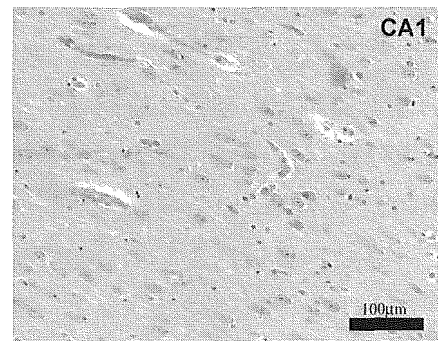


図 4 固有海馬はよく保たれている。CA1 では神経細胞はよく残存しており、わずかに海綿状変化を認めるのみである(H.E.染色)。

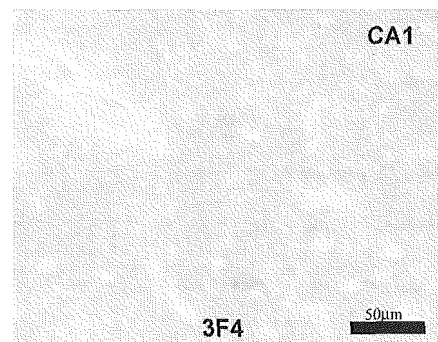


図 5 同部では、プリオン沈着も軽い。(3F4 免疫染色)

た。この変化は新皮質全般にびまん性であった。左中心前回は Betz 巨細胞が比較的残存しているが(図 6)、Pr<sup>sc</sup> 沈着はやはりほとんど認めなかった(図 7)。手術創は、グリア瘢痕を形成し(図 8)、ヘモジデリン沈着を少量認めるが、Pr<sup>sc</sup> 沈着は高度であった(図 9)。一方右中心前回は、やはり Betz 巨細胞が比較的残存しており(図 10)、Pr<sup>sc</sup> 沈着は認められなかった(図 11)。大

脳白質の変性は著明であるが、錐体路は比較的よく保たれていた。

基底核では、尾状核・被殻で中等度、淡蒼球では軽度の細胞脱落を認めた。視床では、背内側核の変性は高度、前核に中等度、腹外側核に軽度の変性を認め、Pr<sup>sc</sup> 沈着を認めた。小脳では、顆粒細胞脱失を認め、Pr<sup>sc</sup> の沈着を分子層には顆粒状、顆粒層にはシナプス状に認めた。

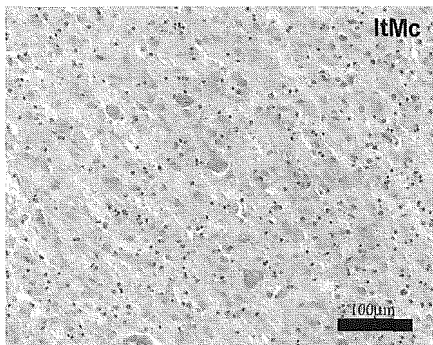


図 6 左中心前回。強いグリオースिसの中に、Betz 巨細胞が選択的に残存している(H.E.染色)。

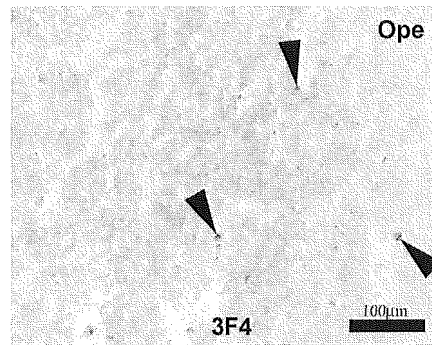


図 9 手術巣では、プリオン沈着も強い。ヘモジデリン(矢尻)を散見する(3F4 免疫染色)。

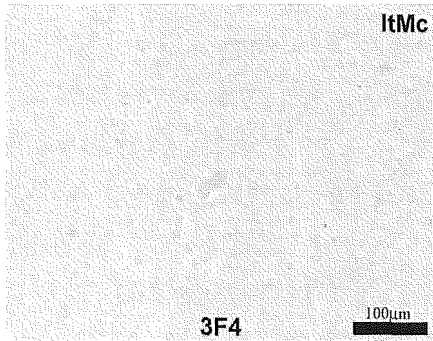


図 7 左中心前回抗プリオン抗体(3F4)免疫染色。陽性所見は認められない。

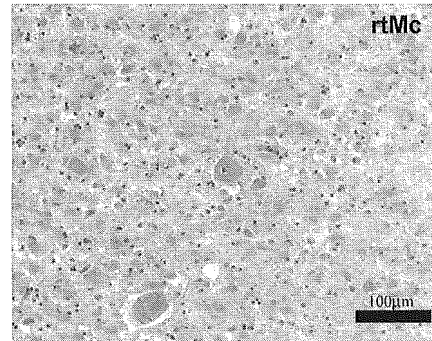


図 10 右中心前回。左同様の所見で、Betz 巨細胞が残存している(H.E.染色)。

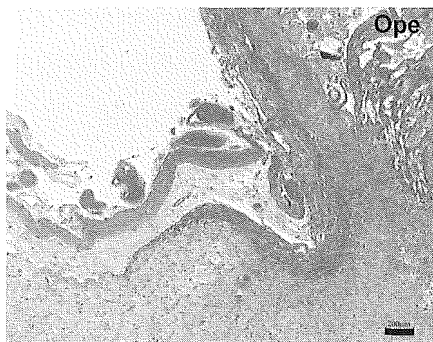


図 8 手術創の H.E.染色所見。グリア瘢痕となっている。

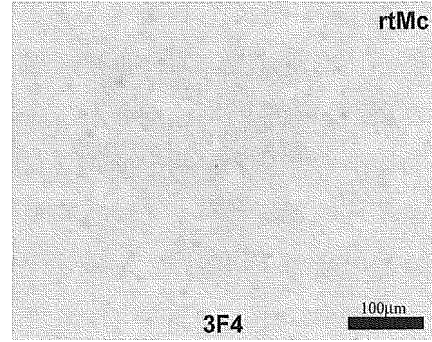


図 11 抗プリオン抗体(3F4)免疫組織化学では、陽性構造は得られなかった。

黒質・青斑核ではメラニン貪食は軽度であった。延髄錐体には少数のマクローファージを認めた。脊髄では、錐体路の二次変性を認めるが、プリオン沈着は後角を含め、検出できなかった。

老年性変化は極めて軽く、神経原線維変化：Braak ステージ I、老人斑：Braak ステージ A、アミロイドアンギオパチーは平滑筋変性を認めるレベルであった。嗜銀顆粒は痕跡、アストログリア原線維変化は認めず、ユビキチン陽性顆粒は嗅内野に少量認めるのみであった。

左腓腹神経、短腓骨筋、扁桃において、不溶性プリオンの沈着は、免疫組織化学的には検出できなかった。

分子病理：Western blot で不溶性プリオンは type 1 であった(北本哲之博士、04/11/30 報告)。

#### D. 考察

本例は、硬膜移植部位からの症状発現が、臨床症状からも、画像所見からも示唆されていた症例である。神経病理学的に、シナプス沈着型の急性クロイツフェルトヤコブ病(CJD)型に属する硬膜移植後プリオン病と診断された。

本例の特徴は、不溶性プリオンの沈着が、手術創の組織破壊部位に強調されていた点である。同部では血液脳関門がかつて破壊されていたと考えられるが、現在でも正常脳組織に比べると、脆弱性が存在することが予想される。

慢性的組織破壊を伴う部位に病変が起きやすいものとして、頸椎症性脊髄症と、多発性硬化症やサルコイドーシスとの合併がある。

本例の場合、硬膜移植部位の近接大脳皮質が、手術により血液・脳関門が破壊されていたことが、この部位からプリオン病の発症が始まったことと関係がある可能性がある。硬膜移植例において、移植となった病態が、近接する中枢神経系の組織破壊を伴っているかどうかを、今後検討する必要があることを指摘したい。

本例の場合、移植近接部位に、免疫組織化学的にはプリオン沈着が強く見えた点も特徴的

である。ただし、Western blot 等での確認がないので、あくまで定性的評価にとどまる。

#### E. 結論

硬膜移植後 CJD で、移植部位より症状がはじまる場合、近接する中枢神経系の組織破壊をともなっているかいないかが、クリティカルである可能性がある。

#### 参考文献

- 1) Wells GAH, Wilesmith JW : The Neuropathology and Epidemiology of Bovine Spongiform Encephalopathy. *Brain Pathol* **5** : 91-103, 1995
- 2) Sato T, Masuda M, Utsumi Y, Enomoto Y, Yamada M, Mizusawa H, Kitamoto T : Dura mater-related Creutzfeldt-Jakob disease in Japan: relationship between sites of grafts and clinical features. In *Prion, Food and Drug Safety*, ed. by Kitamoto T, Springer, 2005, p31-40
- 3) 葛原茂樹, 丹羽 篤, 加藤保司, 近藤昌秀, 三室マヤ, 小久保康昌, 橋詰良夫: 脊髄部手術後に発症した硬膜移植後クロイツフェルト・ヤコブ病の2剖検例の病理学的検討. 平成17年度プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班会議, 2006.1, 東京
- 4) 佐藤 猛, 小林佐千夫, 増田眞之: 硬膜委嘱後 CJD : 移植部位から進展した初発症状と DWI 異常像. 厚生労働省研究費補助金, 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15年度報告書, 平成16年3月, pp67-71
- 5) Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, Arai T, Tanaka N, Kakuta Y, Yamanouchi H, Murayama S : Staging of argyrophilic grains, an age-associated tauopathy. *J Neuropath Exp Neurol* 2004 ; **63** : 911-918

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Mizusawa H, Nakamura Y, Noguchi M, Furukawa Y, Ishida C, Kuji I, Mitani K, Murayama S, Kohriyama T, Katayama S, Yamashita M, Yamamoto T, Udaka F, Kawakami A, Ihara Y, Nishinaka T, Kuroda S, Suzuki N, Shiga Y, Arai H, Maruyama M, Yamada M: Clinical diagnosis of MM2-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 64: 643-648, 2005

2. Saito Y, Murayama S, Shimizu J, Hoshino M, Takatsu M, Komatsuzaki Y, Nakano S, Arima K, Sasaki K, Takahashi M, Hara Y, Hirayasu Y, Yamada M, Kanazawa I: Familial Creutzfeldt-Jakob disease with five octapeptide repeat insert. In *Prion, Food and Drug Safety*, ed. by Kitamoto T,

Springer, 2005, p249-250

### 2. 学会発表

1. 齊藤祐子, 清水 潤, 高津成美, 小松崎八寿子, 中野正剛, 佐々木健介, 平安良雄, 山田正仁, 高橋 啓, 金澤一郎, 村山繁雄: octapeptide リピート挿入数変動をみた家族性クロイツフェルト・ヤコブ病。第46回日本神経学会総会。2005年5月, 鹿児島
2. 東原真奈, 齊藤祐子, 初田裕幸, 武田克彦, 村山繁雄: 声門開大麻痺を呈したクロイツフェルトヤコブ病の一剖検例。第24回日本神経感染症学会。2005年10月, 東京
3. 初田裕幸, 齊藤祐子, 東原真奈, 武田克彦, 村山繁雄: 橋核の著名な変性を示したクロイツフェルトヤコブ病の一剖検例。第33回臨床神経病理懇話会。2005年11月, 金沢

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

## 伝達性海綿状脳症における病理学的マーカーとしてのシナプス関連蛋白発現の解析

分担研究者：岩城 徹 九州大学大学院医学研究院神経病理学  
研究協力者：佐々木健介 九州大学大学院医学研究院神経病理学

### 研究要旨

伝達性海綿状脳症における機能局在の異なるシナプス関連蛋白の発現変化の違いが明らかとなった。

#### A. 研究目的

孤発性ヤコブ病では異常プリオン蛋白がシナプスに沈着し、synaptophysin の発現が低下するという Kitamoto らの報告以来、プリオン病におけるシナプス関連蛋白の発現低下に関する報告が散見される。また、synaptophysin はシナプス終末の endocytosis、SNAP-25 はシナプス小胞の exocytosis に関与すると考えられている。しかし、こうした機能局在の異なるシナプス関連蛋白を絡めてプリオン病の病期ごと、病型ごとに網羅的に解析された報告はない。今回、プリオン病発症における感染神経細胞変性機構を解明するための一助として、また、プリオン病の病理変化の程度を評価するための補助手段として、プリオン病におけるシナプス関連蛋白発現の変化を検討した。

#### B. 研究方法

前年度我々は、孤発性ヤコブ病の病理学的評価基準を策定し、症例毎のグレーディングを決定した。その結果、孤発性ヤコブ病の橋核において病理変化と罹病期間、脳重量低下が相関することを見いだした。したがって同部位は病期の進行に伴う機能蛋白発現の変化を検討するのに適した部位であると考えられる。そこで、橋核における synaptophysin と SNAP-25 の発現を免疫組織化

学的に解析し、コントロールの染色性と比較検討した。さらにプリオン病の経時的変化をより明確にするために、NZW マウスに Fukuoka-1 株を接種したプリオン病のモデルマウス脳についても同様に解析した。シナプス型のプリオン蛋白沈着を示す症例だけでなく、病型の異なるプリオン病の病理変化の特徴を明らかにするために、Gerstmann-Sträussler-Scheinker 病およびブラクの出現を伴う硬膜移植例の医原性ヤコブ病についても検討した。

(倫理面への配慮)

特記すべきことはない。

#### C. 研究結果

孤発性ヤコブ病の橋核において、病理変化が強い症例ほどシナプス関連蛋白の発現が低下している傾向が見られたが、免疫組織化学法による検討では、固定条件などにより症例毎の染色性の違いが無視できないので、症例毎の単純な染色程度の比較は困難であった。そこで各症例について synaptophysin と SNAP-25 の染色性を比較した所、SNAP-25 が病変の軽度なうちから相対的に強く発現低下する傾向がみられた。NZW マウスに Fukuoka-1 株を接種したモデルマウス脳での検討では、シナプス型のプリオン蛋白沈着は視床外側部に限局していた

が、海綿状変化は広く全脳に観察された。このモデルで、synaptophysin は病末期まで比較的発現が保たれていたが、SNAP-25 は、プリオン蛋白沈着部位だけでなく海綿状変化を伴う広い部位で著明な発現低下が見られた。

プラーク型プリオン蛋白沈着を伴うヒトプリオン病脳における検討で、シナプス関連蛋白の免疫染色、および neurofilament やアミロイド前駆蛋白 (APP) の免疫染色により、プラークの周囲に変性神経突起様の病変の他、腫大した軸索や膨化したシナプス終末様の病変を認めた。病理変化が軽度なうちは大脳皮質の synaptophysin の発現は比較的保たれていたが、SNAP-25 の発現は低下していた。

#### D. 考察

多数例の検討で、synaptophysin の発現は保たれていたにもかかわらず、SNAP-25 の発現が低下するものがみられたことから、シナプスの脱落以前にシナプスの機能異常が早期から生じている可能性がある。これまでの報告から、シナプス関連蛋白の機能として、synaptophysin は前シナプスの膜陥入 (endocytosis)、SNAP-25 はシナプス小胞の開口 (exocytosis) との関連が示唆され、それぞれ神経伝達の過程に寄与している。SNAP-25 の発現低下により exocytosis が障害されれば、シナプス終末の空胞形成につながるかもしれない。また、プラーク形成を伴うプリオン病では、プラークに巻き込まれるようにしてシナプス病変が認められるほか、変性神経突起、軸索病変も認められ、病型や部位、病変の強さにより巻き込まれる病理変化が相当程度異なると考えられた。

#### E. 結論

シナプス関連蛋白発現の変化を系統的に解析することは、プリオン病の病理学的評価の補

助となるだけでなく、プリオン病の病態の解明にも寄与する可能性がある。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sasaki K, Doh-ura K, Wakisaka Y, Tomoda H, Iwaki T : Fatal familial insomnia with an unusual prion protein deposition pattern : An autopsy report with an experimental transmission study. *Neuropathol Appl Neurobiol* **31** : 80-87, 2005
- 2) Nakagawa Y, Kawashima T, Yamada T, Harano M, Monji A, Yuzuriha T, Iwaki T : Aluminum chloride does not facilitate deposition of human synthetic amyloid  $\beta$  1-42 peptide in the rat ventricular system of a short-term infusion model. *Neuropathology* **25** : 195-200, 2005
- 3) Ohyagi Y, Asahara H, Chui D, Tsuruta Y, Sakae N, Miyoshi K, Yamada T, Kikuchi H, Taniwaki T, Murai H, Ikezoe K, Furuya H, Kawarabayashi T, Shoji M, Checler F, Iwaki T, Makifuchi T, Takeda K, Kira J, Tabira T : Intracellular A $\beta$ 42 activates p53 promoter : a pathway to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *The FASEB Journal* **19** : 255-257, 2005

##### 2. 学会発表

- 1) 佐々木健介, 岩城 徹 : Creutzfeldt-Jakob 病の病理変化の部位別評価基準法, 第 44 回日本神経病理学会, 宇都宮, 2005 年 5 月 14 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

特記すべきことはない。

## 正常型プリオン蛋白質の細胞内輸送機構の解明

分担研究者：金子 清俊 東京医科大学生理学第二講座  
研究協力者：八谷 如美 東京医科大学生理学第二講座

### 研究要旨

我々は、細胞内可視化の系を用いて正常型プリオンタンパク質 (PrP<sup>C</sup>) の細胞内挙動を観察することから、その生理機能の解明を目指している。これまでに、マウス神経芽細胞腫由来 N2a 細胞および GFP 融合 PrP<sup>C</sup> を用いて、生細胞内での trafficking を解析し、PrP<sup>C</sup> が微小管依存性に局在・移動していること、また、順方向性輸送がキネシン依存性、逆行性輸送はダイニン依存性であることを見出している。今回、さらに PrP<sup>C</sup> の神経細胞内輸送を詳細に解析する目的で、神経成長因子 NGF 依存性分化応答細胞株である PC12 細胞を用い、分化誘導前後での PrP<sup>C</sup> の細胞内輸送を解析した。分化誘導前の PC12 細胞では、N2a 細胞とほぼ同様に、順行性に 150nm/sec、逆行性に 1  $\mu$ m/sec での移動が観察された。他方、NGF による分化誘導後、樹状突起の伸長並びにシナプス形成を認めた PC12 細胞の細胞体内においては、それぞれ N2a 細胞とほぼ同じく、順行性の輸送速度は 100-140nm/sec、逆行性輸送速度は 1-1.2  $\mu$ m/sec であった。しかしながら、同じ PC12 細胞の樹状突起内においては、順行性輸送速度の平均がほぼ 50nm/sec と著明な輸送速度の低下が見られた。同じ樹状突起内においても、逆行性輸送速度には変化は見られなかった。以上の結果は、分化誘導に伴い形成される樹状突起内においては、(1)細胞体内と異なり順行性細胞内輸送において PrP<sup>C</sup> が局在している輸送小胞が少なくとも 2 種類存在している、(2) PrP<sup>C</sup> を含む同一の輸送小胞が細胞体内から樹状突起に移動する際に異なるモーター蛋白質への乗換えが生じている、これらのうちのいずれかの可能性を示唆している。

### A. 研究目的

感染型プリオンタンパク質 (PrP<sup>Sc</sup>) についてのさまざまな研究成果の傍ら、正常型プリオンタンパク質 (PrP<sup>C</sup>) についてはその生理的な機能はおろか、細胞内での動態についてすらほとんど知られていない。我々は以前より、細胞内可視化の系を用いて PrP<sup>C</sup> のマウス神経芽細胞腫由来 N2a 細胞内挙動を観察することにより、N2a 生細胞内での trafficking を解析し、以下

に挙げる新しい事実を見出した。1) 微小管阻害剤であるノコダゾールにより、PrP<sup>C</sup> の細胞内局在パターンが明らかに阻害されたことから、PrP<sup>C</sup> の細胞内局在には微小管が関与していることを明らかにし、さらに試験管内の再構成実験により、PrP<sup>C</sup> と微小管との相互作用を確認した。2) N 末端に GFP を融合した PrP<sup>C</sup> を発現させ細胞内の動きをタイムラプスにて詳細に観察した結果、PrP<sup>C</sup> の微小管依存性順行性及び



逆行性輸送を見出した。3) タイムラプス計測によって得られたデータから順行性及び逆行性輸送速度を計算し、さらに各阻害剤を添加した実験から、順行性輸送はキネシンスーパーファミリーの KIF4 によって、逆行性輸送はダイニンによって行われていることを明らかにした。4) PrP<sup>C</sup> のアミノ酸配列上、各輸送に関わる部分を同定した。さらに、5) N 末端、C 末端両方に蛍光蛋白質を融合したキメラプリオン蛋白質の N2a 生細胞による観察から、細胞内での PrP<sup>C</sup> 切断を可視化し、N 末端を含む切断断片と C 末端を含む切断断片では各々の分布が異なっていることが明らかになった。この両端に蛍光分子を持つ PrP<sup>C</sup> 可視化の系により、細胞内で PrP<sup>C</sup> 切断に関わる酵素の同定などが可能になると期待され、今後さらに PrP<sup>C</sup> の生理機能解析が進展するものと考え、本研究を行っている。今年度は、さらに PrP<sup>C</sup> の神経細胞内輸送を詳細に解析する目的で、神経成長因子 NGF 依存性分化応答細胞株である PC12 細胞を用い、分化誘導前後での PrP<sup>C</sup> の細胞内輸送を解析した。

## B. 研究方法

- 1) PrP<sup>C</sup> の微小管依存性細胞内輸送の詳細な観察に向けて、安定した蛍光蛋白質標識 PrP<sup>C</sup> の持続発現培養細胞株及び1週間以上に及ぶ蛍光標識 PrP<sup>C</sup> 連続観察系を確立し、長期間連続した生細胞の持続観察を行った。
- 2) 作成した GFP-PrP を持続発現させたマウス Neuro2a (N2a) の生細胞について、詳細な条件検討を行った。
- 3) N2a 細胞を分化誘導した状態での蛍光標識 PrP<sup>C</sup> の細胞内挙動を検討した。これにより、輸送される PrP<sup>C</sup> の最終目的地について検討した。これらの結果を総合的に判断することで、限られた一定条件下ではあるが、PrP<sup>C</sup> の生理的な機能の一端を解明した。

(倫理面への配慮)

本実験においては、市販されている培養細胞

のみを用いている。

## C. 研究結果

- 1) 蛍光標識 PrP<sup>C</sup> を効率よく発現した stable transfectant の培養細胞株を初めて樹立した。その結果、以下の検討が可能となった。
- 2) PrP<sup>C</sup> の神経細胞内輸送を詳細に解析する目的で、神経成長因子 NGF 依存性分化応答細胞株である PC12 細胞を用い、分化誘導前後での PrP<sup>C</sup> の細胞内輸送を解析した。分化誘導前の PC12 細胞では、N2a 細胞とほぼ同様に、順行性に 150nm/sec、逆行性に 1  $\mu$ m/sec での移動が観察された。
- 3) 他方、NGF による分化誘導後、樹状突起の伸長並びにシナプス形成を認めた PC12 細胞の細胞体内においては、それぞれ N2a 細胞とほぼ同じく、順行性の輸送速度は 100-140nm/sec、逆行性輸送速度は 1-1.2  $\mu$ m/sec であった。
- 4) しかしながら、同じ PC12 細胞の樹状突起内においては、順行性輸送速度の平均がほぼ 50nm/sec と著明な輸送速度の低下が見られた。
- 5) 同じ樹状突起内においても、逆行性輸送速度には変化は見られなかった。

## D. 考察

神経機能分子と蛍光性タンパク質のキメラタンパク質は機能分子の動態・構造変化をリアルタイムで観察するうえで極めて有効であり、この方法によって従来は見落とされていた現象として、プリオンタンパク質の順行性並びに逆行性輸送の詳細を明らかにすることが出来た。

本年度は、分化誘導に伴い形成される樹状突起内においては、順行性輸送速度のみが著明に低下していることを明らかにした。このことは、(1)細胞体内と異なり順行性細胞内輸送において PrP<sup>C</sup> が局在している輸送小胞が少なくとも 2 種類存在している、(2) PrP<sup>C</sup> を含む同一の輸

送小胞が細胞体内から樹状突起に移動する際に異なるモーター蛋白質への乗換えが生じている、これらのうちのいずれかの可能性を示唆している。

また以前我々は、PrP<sup>C</sup>過剰発現による細胞死機構：過剰発現トランスジェニックマウス脳を用いた検討を行った結果、加齢に伴い PrP<sup>C</sup>は最終的にミトコンドリアへ標的化されアポトーシスを起こすことを見出した。さらに、N2a 細胞を用い、proteasome 阻害剤ラクタシスチンを添加することで PrP<sup>C</sup>が細胞内に蓄積する系を構築し、同様の現象が生じることを見出した。この系において PrP<sup>C</sup>のミトコンドリアへの標的化機構に関与する細胞質因子を調べたところ、PrP<sup>C</sup>がミトコンドリアへ標的化するときの 14-3-3 蛋白質のアイソフォームを同定した。さらに 14-3-3 蛋白質を経由した標的化機構におけるミトコンドリア外膜上のレセプターも同定した。

さらに、実際にプリオン病における神経細胞死とこれらの知見との関連を探るために、遺伝性プリオン病の一型である GSS with Y145STOP、すなわち PrP コドン 145 にアンバー変異が入ったプリオン病の細胞培養モデルを作成し検討したところ、Y145STOP を発現した細胞は、ミトコンドリアアポトーシスによる細胞死を来していることが確認された。このことは、ミトコンドリアアポトーシスが、プリオン病の神経細胞死、ひいては海綿状変化に、幅広く関連している可能性を示している。

今後さらに PrP<sup>C</sup>の生理機能並びに神経細胞死との関連に関する理解を深めることができれば、例え PrP<sup>Sc</sup>の増殖が防ぎきれなくとも、神経細胞死を抑制し、生存させることが可能となるかもしれない。すなわち、プリオン病の発症予防という観点からも、全く新しい治療戦略を構築できる可能性も示唆された。

## E. 結論

PrP<sup>C</sup>の神経細胞内輸送を詳細に解析する目

的で、神経成長因子 NGF 依存性分化応答細胞株である PC12 細胞を用い、分化誘導前後での PrP<sup>C</sup>の細胞内輸送を解析した。

その結果、分化誘導に伴い形成される樹状突起内においては、順行性輸送速度のみが著明に低下していることを明らかにした。

細胞内可視化の系を用いて PrP<sup>C</sup>の細胞内挙動を詳細に観察することで、今後さらに PrP<sup>C</sup>の生理機能解析が進展するものと考えられる。

今後さらに PrP<sup>C</sup>の生理機能並びに神経細胞死との関連に関する理解を深めることができれば、例え PrP<sup>Sc</sup>の増殖が防ぎきれなくとも、神経細胞死を抑制し生存させるといふ、全く新しい治療戦略を構築できる可能性も示唆された。

## F. 健康危険情報

とくになし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Hachiya NS, Yamada M, Watanabe K, Jozuka A, Ohkubo T, Sano K, Takeuchi Y, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K : Mitochondrial localization of cellular prion protein (PrP<sup>C</sup>) invokes neuronal apoptosis in aged transgenic mice overexpressing PrP<sup>C</sup>. *Neurosci Lett.* **74** : 98-103, 2005
- 2) Hachiya NS, Watanabe K, Kawabata MY, Jozuka A, Ohkubo T, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K : Prion protein with Y145STOP mutation induces mitochondria-mediated apoptosis and PrP-containing deposits *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun.* **327** : 894-899, 2005
- 3) Tamura Y, Sakasegawa Y, Omi K, Kishida H, Asada T, Kimura H, Tokunaga K, Hachiya NS, Kaneko K,

- Hohjoh H : Association study of the chemokine, CXC motif, ligand 1 (CXCL1) gene with sporadic Alzheimer's disease in a Japanese population. *Neurosci Lett.* **379** : 149-151, 2005
- 4) Noma T, Ikebukuro K, Sode K, Ohkubo T, Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K : Screening of DNA aptamers against multiple proteins in tissue. *Nucleic Acids Symposium Series.* **49** : 357-358, 2005
- 5) Hachiya NS, Ohkubo T, Kozuka Y, Yamazaki M, Mori O, Mizusawa H, Sakasegawa Y, Kaneko K : More than a 100-fold increase in immunoblot signals of laser-microdissected inclusion bodies with an excessive aggregation property by oligomeric actin interacting protein 2/d-lactate dehydrogenase protein 2. *Anal Biochem.* **347** : 106-111, 2005
- 6) Omi K, Hachiya NS, Tokunaga K, Kaneko K : siRNA-mediated inhibition of endogenous Huntington disease gene expression induces an aberrant configuration of the ER network *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun.* **338** : 1229-1235, 2005
- 7) Kaneko K, Hachiya NS. Hypothesis : Gut as source of motor neuron toxin in the development of ALS. *Med Hypotheses.* **66** : 438-9, 2006
- 8) Ohkubo T, Sakasegawa Y, Toda H, Kishida H, Arima K, Yamada M, Takahashi H, Mizusawa H, Hachiya NS, Kaneko K : Three-repeat tau 69 is a major tau isoform in laser-microdissected Pick bodies. *Amyloid in press*
- 9) 金子清俊 : クロイツフェルト・ヤコブ病. *臨床と微生物.* **32** : 69-72, 2005.
- 10) 八谷如美, 金子清俊 : 新しいシャペロンの発見 - 神経難病の治療へ -. *科学.* **75** : 283-285, 2005.
- 11) 八谷如美, 金子清俊 : プリオン研究の進展. *Virus Report.* **2** : 14-19, 2005.
- 12) 金子清俊 : vCJD (変異型クロイツフェルト・ヤコブ病). *日本評論社「からだの科学」.* **244** : **95**, 2005.
- 13) 金子清俊 : BSEと食の安全. *日本薬剤師会雑誌.* **57** : 81-84, 2005.
- 14) 金子清俊 : 科学と行政 - 科学者とBSE対策 -. *現代化学.* **416** : 60-63, 2005.
- 15) 八谷如美, 金子清俊 : プリオン病の現状 - 牛海綿状脳症と変異型CJDを中心に -. *LABIO 21.* **22** : 5-10, 2005.
- 16) 金子清俊 : プリオン病に挑むアンフォルジン. *東京医科大学雑誌.* **63** : 443-449, 2005.
- 17) 八谷如美, 金子清俊 : 牛海綿状脳症 (BSE) と変異型CJD. *Bios.* **10** : 7-8, 2005.
- 18) 金子清俊 : 特集「プリオン病」. はじめに. *医学のあゆみ.* **215** : 875, 2005.
- 19) 金子清俊 : 理系の説明責任. BSE問題をめぐって. *科学.* **76** : 52-55, 2006.
- 20) 八谷如美, 金子清俊 : プリオン蛋白質異常化の分子機構. *化学療法の領域.* **22** : 63-68, 2006.
- 21) 八谷如美, 金子清俊 : プリオン病の治療 - 現状と将来展望 -. *Annual Review 2005 神経.* 柳沢信夫, 篠原幸人, 岩田誠, 清水輝夫, 寺本明編. 中外医学社(東京), **4** : 90-95, 2005.
- 22) 金子清俊 : 不思議なプリオン病. 脳はどこまでわかったか. 朝日選書771. 井原康夫編, 朝日新聞社(東京), 2005.
- 23) 金子清俊 : プリオン病. 日常診療に活かす老年病ガイドブック - 認知症・うつ・睡眠障害の診療の実際 -. 三木哲郎編, *Medical View*(東京), **4** : 173-179, 2005.
- 24) 金子清俊 : BSE - 米国産牛肉輸入再開問題 -. *日本農業の動き. 農政ジャーナリストの会編, 農林統計協会(東京),* **153** :

- 58-79, 2005.
- 25) 金子清俊：プリオンタンパク，プリオン遺伝子。医学大辞典。南山堂(東京)，印刷中
2. 学会発表
- 1) Hachiya NS, Yamada M, Jozuka A, Sakasegawa Y, Kaneko K : Prion disease and Unfoldase chaperone : an ATP-dependent novel protein-unfolding chaperone. 30th FEBS & 9th IUBMB Conference : The Protein World. Budapest, July 2-7, 2005.
  - 2) Noma T, Ikebukuro K, Sode K, Ohkubo T, Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K : *In vitro* selection of DNA aptamers against proteins in tissue. Second World Congress on Synthetic Receptors. Zalzburg, Sept 7-9, 2005.
  - 3) Noma T, Ikebukuro K, Sode K, Ohkubo T, Sakasegawa Y, Hachiya NS, Kaneko K : Screening of DNA aptamers against multiple proteins in tissue. The 4th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (SNAC2005). Fukuoka, Sept 20-22, 2005.
  - 4) Kaneko K : Diagnostic application of a novel protein unfolding chaperone(Unfoldin) in protein aggregation disorders. The 1st International Symposium on Geriatrics and Gerontology. Nagoya, Nov 3, 2005.
  - 5) Hachiya NS, Ohkubo T, Kozuka Y, Sakasegawa Y, Kaneko K : Over a hundredfold increase in immunoblot signals of laser-microdissected inclusion bodies with an excessive aggregation property by oligomeric Aip2p/Dld2p. 45th American Society for Cell Biology Annual Meeting. San Francisco, Dec 10-14, 2005.
  - 6) 金子清俊：牛海綿状脳症(BSE)と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病。第59回日本栄養・食料学会大会。東京，5.16, 2005.
  - 7) 金子清俊：牛海綿状脳症(BSE)と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病。日本労働組合連合会。東京，6.28, 2005.
  - 8) 金子清俊：牛海綿状脳症(BSE)と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病。滋賀血液・免疫研究会。滋賀，7.30, 2005
  - 9) 金子清俊：牛海綿状脳症(BSE)と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病。夏期学校給食学習会。横浜，8.4, 2005.
  - 10) 金子清俊：牛海綿状脳症(BSE)と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病。第二回柏崎認知症フォーラム。新潟，10.7, 2005.
  - 11) 金子清俊：牛海綿状脳症(BSE)と人変異型クロイツフェルト・ヤコブ病。第12回徳島神経難病治療薬研究会。徳島，10.28, 2005.
  - 12) 金子清俊：プリオンと蛋白質凝集。平成17年度新潟大学脳研究所神経内科同窓会懇話会 40周年記念講演会。新潟，11.19, 2005.
  - 13) 渡邊光太，金子清俊，八谷如美：正常型プリオン蛋白質の分化誘導下における輸送機構。2005年プリオン研究会。山形，8.26-27, 2005.
  - 14) 小塚芳道，金子清俊，渡邊光太，八谷如美：Possible evidence of a missing link between prokaryotes and eukaryotes ; Presence of subcellular membrane system in newly discovered marine microorganisms. 第78回日本生化学会大会。神戸，10.19-22, 2005.
  - 15) 小見和也，八谷如美，徳永勝士，金子清俊：Requirement of huntingtin in the maintenance of endoplasmic reticulum morphology. 第78回日本生化学会大会。神戸，10.19-22, 2005.
  - 16) 八谷如美，渡邊光太，逆瀬川裕二，金子清俊：Prion protein with Y145STOP