

## プリオン病モデルマウスにおける重合プリオン蛋白形成の経時的解析

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分野

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分野

### 研究要旨

遠心カラムを用いた簡便なゲル濾過サイズ分画の手法を開発し、プリオン病モデルマウスを用いて病期ごとのプリオン蛋白の重合度の変化を検討した。重合プリオン蛋白はプロテアーゼ抵抗性異常プリオン蛋白の蓄積より先行して増加し、病初期の病態に関与している可能性が示された。異常プリオン蛋白の性質については、プロテアーゼ抵抗性だけでなく、蛋白重合度の変化を含め総合的に解明する必要性があり、本法は操作が簡便で応用性に優れていると考えられる。

### A. 研究目的

プリオン病は、正常型のプリオン蛋白が構造変換した異常プリオン蛋白 ( $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ ) が脳内に蓄積し、神経変性をきたして発症すると考えられているが、その病態メカニズムは未だ不明な点が多い。 $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  の検出には、これまでプロテアーゼ抵抗性という性質を基準にして正常型と区別されてきたが、近年プロテアーゼ感受性  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  の存在が報告され、また、高度に凝集したアミロイド線維よりもオリゴマー状態の  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  のほうが感染性や神経細胞毒性が高いことが示されるなど、中間的な性質を持つ  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  の病態への関与が注目されている。我々は、プロテアーゼ抵抗性という従来の指標とは別の視点から、 $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  の生成過程を検討するために、遠心カラムを用いた簡易サイズ分画の手法を新たな検出法として適用し、プリオン病モデルマウスを用いて、病期ごとのプリオン蛋白の重合度の変化を検討した。

### B. 研究方法

#### モデルマウスの作成

NZW/マウスに福岡-1 株を脳内接種して、

0.5 ヶ月ごとに脳サンプルを採取した。ホルマリン固定して組織観察と免疫染色を行なうとともに、一部を凍結保存して蛋白生化学的解析に用いた。各時点における海綿状変化の評価は、H.E.染色標本で視床外側部の空胞領域を画像解析ソフトにより抽出し、領域面積を算出した。プリオン蛋白免疫染色で異常沈着のパターンを検討したほか、プロテアーゼ抵抗性異常プリオン蛋白 ( $\text{PrP}^{\text{res}}$ ) の発現量をプロテイナーゼK (PK) 処理後にウェスタン・ブロット法で半定量した。

#### 異常プリオン蛋白の重合度の検討

市販の遠心ゲル濾過カラム (CHROMA SPIN TE-200, Clontech) を用いて、低速遠心と溶出バッファの添加を繰り返して分子サイズによる分画を簡便に行う手法を開発した。この方法により PK 未処理のモデルマウス脳ホモジネートを界面活性剤存在下でサイズ分画して、プリオン蛋白の重合度の変化を病期ごとに解析した。

#### (倫理面への配慮)

本研究におけるマウスの感染実験は、九州大学動物実験委員会による審査で承認された。

### C. 研究結果

NZW/福岡-1 株を脳内接種したマウスは、接種後 4.0 ヶ月に神経症状を呈して死亡した。病理組織学的には視床外側の局所的なプリオン蛋白沈着、視床外側の海綿状変化、大脳皮質でのプリオン蛋白沈着がそれぞれ 2.0 ヶ月、3.0 ヶ月、3.5 ヶ月から認められたのに対して、生化学的検査による PrP<sup>res</sup> の検出は 3.5 ヶ月より有意な増加がみられた。

遠心カラム法によりプリオン蛋白の重合度の変化を検討したところ、病期の進行に伴いオリゴマーに相当する分画で検出されるプリオン蛋白分子が増加することが確認された。接種後 3.0 ヶ月のサンプルでは PrP<sup>res</sup> の明らかな増加は認めなかったが、オリゴマー状態のプリオン蛋白分子の出現が明らかとなり、この時期のプリオン蛋白オリゴマーはプロテアーゼ感受性 PrP<sup>Sc</sup> である可能性が示された。一方で、病末期のサンプルから得られたオリゴマーを PK 処理して検討したところ、その大部分はプロテアーゼ抵抗性の PrP<sup>res</sup> であった。

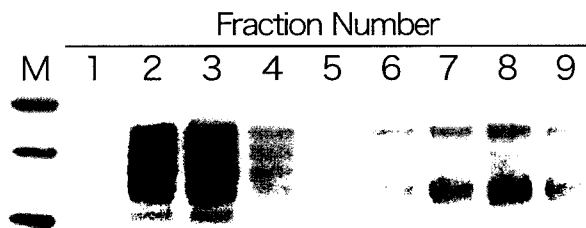


図. 病末期 (4.0 ヶ月) のサンプルの分画パターン

各分画に含まれるプリオン蛋白をウェスタン・ブロット法で検討した。モノマーに相当する分画 7、8 のほか、分画 2、3 にオリゴマーに相当するプリオン蛋白が検出された。M: 分子量マーカー。

### D. 考察

遠心ゲル濾過カラム法は、閉鎖系で操作できるため安全であり、簡便でありながら従来とは異なる指標で PrP<sup>Sc</sup> の検出に寄与しうる。

すなわち、界面活性剤存在下でも重合しやすい、界面活性剤難溶性という PrP<sup>Sc</sup> の性質を反映することが示唆された。重合プリオン蛋白は PrP<sup>res</sup> の蓄積より先行して増加し、病初期の病態に関与している可能性があり、また、病初期のプリオン蛋白オリゴマーはプロテアーゼ感受性 PrP<sup>Sc</sup> だが、病期の進行とともにプロテアーゼ抵抗性の PrP<sup>res</sup> に移行すると考えられた。病態に関与するプリオン蛋白の性質については、プロテアーゼ抵抗性だけでなく、蛋白重合度の変化を含め総合的に解明する必要がある。

### E. 結論

遠心カラムを用いた簡便なゲル濾過サイズ分画の手法を開発して、PrP<sup>res</sup> の生成に先行して異常プリオン蛋白オリゴマーが出現することを示した。

### [参考文献]

1. Safar J, Wille H, Itri V, Groth D, Serban H, Torchia M, Cohen FE, Prusiner SB. Eight prion strains have PrP<sup>Sc</sup> molecules with different conformations. *Nat Med* 1998; 4: 1157-1165.
2. Simoneau S, Rezaei H, Sales N, Kaiser-Schulz G, Lefebvre-Roque M, Vidal C, Fournier JG, Comte J, Wopfner F, Grosclaude J, Schatzl H, Lasmezas CI. In vitro and in vivo neurotoxicity of prion protein oligomers. *PLoS Pathog* 2007; 3: 1175-1186.

### F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Fujimi K, Noda K, Sasaki K, Wakisaka Y, Tanizaki Y, Iida M, Kiyohara Y, Kanba S, Iwaki T. Altered Expression of COX-2 in Subdivisions of the Hippocampus during Aging and in Alzheimer's Disease: The Hisayama Study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007; 23 (6) ; 323-333.

2. 佐々木健介, 岩城 徹. プリオン病の病理解剖と標本作製の留意点. *病理と臨床*. 2007; 25; 1124-1130.

### 2. 学会発表

1. 佐々木健介, 皆木晴彦, 岩城 徹. 伝達性海綿状脳症におけるシナプス関連蛋白発現の経時的解析. 第48回日本神経病理学会. 東京, 2007. 5. 30-6. 1

2. 皆木晴彦, 佐々木健介, 岩城 徹. プリオン蛋白オリゴマーの簡便な検出法. プリオン研究会 2007. 津南, 2007. 8. 25-26

3. Sasaki K, Minaki H, Iwaki T. Time course of the development of PrP aggregates in a mouse model of prion disease. *Prion* 2007. Edinburgh, 2007. 9. 26-28

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

特になし

### 2. 実用新案登録

特になし

### 3. その他

特になし

## 遺伝子改変モデルマウスによるプリオン伝達試験（6）

### —ヒトのコドン 219Lys のモデルマウスはプリオン抵抗性ではない—

分担研究者：毛利 資郎 動物衛生研究所プリオン病研究センター  
研究協力者：松浦 裕一 動物衛生研究所プリオン病研究センター  
研究協力者：石川有紀子 動物衛生研究所プリオン病研究センター  
研究協力者：北本 哲之 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

#### 研究要旨

これまでに、ヒト型プリオンタンパク質遺伝子導入ノックインマウス（KiHu-129M、KiHu129V）により、コドン 129Met、129Val の遺伝子多型が感染性と病理変化に深く関連していることを報告した。しかしながら、それらは全てコドン 219Glu であった。コドン 219Lys のアレルをもつ孤発性 CJD の発生が認められないことから、コドン 219Lys は抑制的に働くのではないかと考えられている。そこで、ヒトのプリオン蛋白質遺伝子コドン 219 の多型モデルとして作製した遺伝子改変ノックインマウス 219Lys 型（Ki-219K/K と略）、219Glu 型（Ki-219E/E）およびそれらのヘテロ型（Ki-219E/K）を用いて伝達試験を行った。

その結果、Ki-219K/K は  $v$  CJD に強い感受性を示した。また、腹腔内接種後 75 日の Ki-219E/K マウスの脾臓に於ける異常プリオン蛋白質の蓄積量は、半定量的比較により Ki-219K/K、Ki-219E/E と比較して少ないのみならず、ノックインマウスと交配して作製したヘミ型（Ki-219K/0、Ki-219E/0）と比べても最も少なかった。このことから、遺伝子のヘテロ性による異常化の抑制化が示唆された。

#### A. 研究目的

ヒトのプリオン蛋白質はヒトプリオン蛋白質遺伝子にコードされた 253 個のアミノ酸からなっており、129 番目のアミノ酸にメチオニン（Met）とバリン（Val）、219 番目にグルタミン酸（Glu）とリシン（lys）の多型が存在することが知られている。コドン 219 の多型のうち、219Lys は東南アジアに特有の多型であり、日本人の人口の約 12% に 219Lys の出現頻度があることが報告されている<sup>1</sup>。しかしながら、GSS など遺伝子変異や硬膜移植例のクロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）患者の一部を除き、孤発例の CJD

に 219Lys 患者が報告されていないことから、219Lys はプリオン蛋白質 PrP<sup>C</sup> の異常化を抑制する可能性が推定されている<sup>2</sup>。

われわれは遺伝子改変モデルマウス（ヒト型プリオン蛋白質ノックインマウス）を用いて伝達試験により 219Lys がプリオンの変換抑制に作用しているか否かを調べた。

#### B. 研究方法

1) ヒトプリオン蛋白質遺伝子導入の 219 多型モデル作出はこれまでの一連のノックインマウスの導入ベクター、カセットと同様におこなった<sup>3</sup>。このモデルはヒト・プリオン

蛋白質遺伝子のコドン 129 はメチオニン型を有し、コドン 219 が Glu をホモで有するマウス (Ki-Hu219E/E)、Lys をホモに有するマウス (Ki-Hu219K/K) である。それらを交配し、Glu と Lys をヘテロにもつマウスを (Ki-Hu219E/K)、プリオン蛋白質遺伝子欠損マウスとの交配によりそれぞれをヘミにしたマウス (Ki-Hu219E/0、もしくは Ki-Hu219K/0) を作製して用いた。一方、コドン 129 についても同様にコドン 219 は Glu を有し、コドン 129 メチオニン型ホモ (Ki-Hu129M/M) とヘミ (Ki-Hu129M/0)、バリン型ホモ (Ki-Hu129V/V)、メチオニンとバリンのヘテロマウス (Ki-Hu129M/V) を作製して伝達試験に供した (図 1)。

2) 接種材料のプリオンは PBS にて 10% 脳乳剤を作製し、上清を 60°C、30 分間加熱処理した後、20 $\mu$ l をマウス脳内に、50 $\mu$ l を腹腔内に接種した。脳内接種では一般状態を観察し、発症もしくは一般状態が悪くなった場合には安楽死させ、右半脳をホルマリン標本に、左半脳を凍結し、プリオンが伝達されたかどうかについて、免疫組織化学 (IHC) およびウェスタンブロッティング (WB) で調べた。腹腔内接種のマウスは接種後 75 日で安楽死を行い、脾臓を採取し、脳と同様に IHC および WB で解析した。

3) 脳と脾臓の WB はコラゲナーゼ法<sup>4</sup>に準じて行い、定法に従い SDS-PAGE の後、PVDF メンブランに転写し一次抗体として 3F4 もしくは ChW 抗体を用い、二次抗体として抗マウスもしくは抗ウサギ EnVision を用い化学発光 (Amersham Bioscience, UK) により、イメージアナライザー (Vasa Doc 5000) にてシグナル強度を比較した。

#### (倫理面への配慮)

動物実験に際しては、九州大学大学動物実験指針及び農林水産試験研究独立行政法人における動物実験等の実施に関する基本指針に

従い、動物実験委員会による実験計画書の審査を受け、感染実験は物理的封じ込め設備を有するプリオン専用の感染動物実験室でおこなった。

#### C. 研究結果

弧発例 CJD のコドン 129MM1 型 (sCJDMM1)、コドン 129MV1 型 (sCJDMV1) は脳内接種でいずれも Ki-Hu219K/K マウスに感受性を有した。しかし、sCJDMM1 の Ki-Hu219E/E に対する感受性に比べると長い潜伏期間を要した。ところが、変異型 CJD (vCJD05/02) は Ki-Hu219E/E に対して最も短い潜伏期間を示した (Table1)。そこで、vCJD プリオンの 219 ノックインマウスにおける PrP<sup>Res</sup> への変換効率を調べるために腹腔内接種後 75 日の脾臓の PrP<sup>Res</sup> 蓄積を WB にて調べた。その結果、vCJD は Ki-Hu219K/K で最も効率よく PrP<sup>Res</sup> に変換されることが判明した。次に変換が多いのは Ki-Hu219K/0、続いて Ki-Hu219E/E、Ki-Hu219E/0 の順であり、最も効率が悪いのは Glu と Lys のヘテロマウス Ki-Hu219E/K であった。また、129 の多型に関して vCJD は Ki-Hu129M/M で最も良い変換効率を示し、次に Ki-Hu129M/0 であり、129 がヘテロである Ki-Hu129M/V マウスではほとんど変換されず、Ki-Hu129V/V ではまったく変換が認められなかった。

#### D. 考察

ヒトプリオン蛋白質遺伝子にコードされたアミノ酸多型のうちコドン 219K/K は PrP<sup>C</sup> の PrP<sup>Res</sup> への変換に抑制的に働くと考えられていたが、われわれのヒトプリオン蛋白質遺伝子ノックインマウスへの伝達試験成績から否定的であった。ヒトの症例においても、硬膜移植による CJD<sup>2</sup>、ヒトプリオン蛋白質のコドン 102 の変異の GSS<sup>5</sup>、家族性 CJD<sup>6</sup> において 219Lys のケースが報告されている

ことから 219Lys は必ずしも変換抑制的でないと考えられる。さらに、ノックインマウスのコドン 219Lys のモデルを用いた伝達試験の結果から vCJD は sCJD の 129MM1 型や 129MV1 型よりも 219Lys に感受性が高いと考えられた。

われわれの作製したノックインマウスはマウスプリオン蛋白質遺伝子を相同組み換えによりヒト型に換えたもので、同じカセットを使用していることにより種々のヒト型遺伝子の産生するヒト型 PrP<sup>C</sup> の発現量は理論的に homozygous = heterozygous > hemizygous (1/2 of homozygous) > Knock-out (=0) である。我々のマウスにおいても、予想通り PrP<sup>C</sup> は Ki-Hu219E/E = Ki-Hu219K/K = Ki-Hu219E/K > Ki-Hu219E/0 = Ki-Hu219K/0 であった。しかしながら、PrP<sup>Res</sup> 変換された vCJD プリオンは Ki-Hu219K/K > Ki-Hu219K/0 > Ki-Hu219E/E > Ki-Hu219E/0 > Ki-Hu219E/K であった。同様に vCJD を腹腔内に接種されたヒトプリオン蛋白質のコドン 129 の多型モデルの PrP<sup>Res</sup> の変換量は Ki-Hu129M/M > Ki-Hu129M/0 > Ki-Hu129M/V であった。すなわち、ヘテロ接合体はホモ接合体と PrP<sup>C</sup> の総産生量がおなじでヘミの 2 倍量の PrP<sup>C</sup> を発現しているにもかかわらず、いずれの多型モデルにおいても、PrP<sup>Res</sup> への変換効率が最も悪かった。以上のことから、PrP<sup>C</sup> のヘテロ発現によりプリオンへの変換が抑制されることが示唆された。

#### E. 結論

1. ヒト型モデルマウスではヒトプリオン蛋白質遺伝子コドン 219Lys は必ずしも変換抑制的ではない。
2. vCJD は他の人プリオン株よりも 219Lys 型に感受性が高いことが示された。
3. ヒト型マウスではコドン 129、219 でヘテ

ロ接合体による変換抑制が起こっていることが示唆された。

#### [参考文献]

1. Kitamoto T, Tateishi J. Human prion diseases with variant prion protein. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1994; 343; 391-398.
2. Shibuya S, et al. Codon 219Lys allele of PRNP is not found in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 1998; 43; 826-828.
3. Kitamoto T, et al. Follicular dendritic cell of the knock-in mouse provides a new bioassay for human prions. *BBRC* 2002; 294; 280-286.
4. Grathwohl KU, et al. Improvement of PrP<sup>Sc</sup>-detection in mouse spleen early at the preclinical stage of scrapie with collagenase-completed tissue homogenization and Sarkosyl-NaCl extraction of PrP<sup>Sc</sup>. *Arch Virol* 1996; 141; 1863-1874.
5. Furukawa H, et al. New variant prion protein in a Japanese family with Gerstmann-Straussler syndrome. *Mol Brain Res* 1995; 30; 385-388.
6. Nishida Y, et al. Creutzfeldt-Jakob disease with a novel insertion and codon 219 Lys/Lys polymorphism in PRNP. *Neurology* 2004; 63; 1978-1979.

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表 (2007/4/1~2008/3/31 発表)

##### 1. 論文発表

1. Kobayashi A, Asano M, Mohri S, Kitamoto T. Cross-sequence transmission of sporadic

Creutzfeldt-Jakob disease creates a new prion strain. J Biol Chem 2006: 282 (41) ; 30022- 30028.

2. 学会発表

1. Fujita Y, Matsuura Y, Ishikawa Y, Somerville RA, Kitamoto T, Yokoyama T, Mohri S. Heat resistance of BSE infectivity by dehydration of materials. PRION2007, Edinburgh. Sept 2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

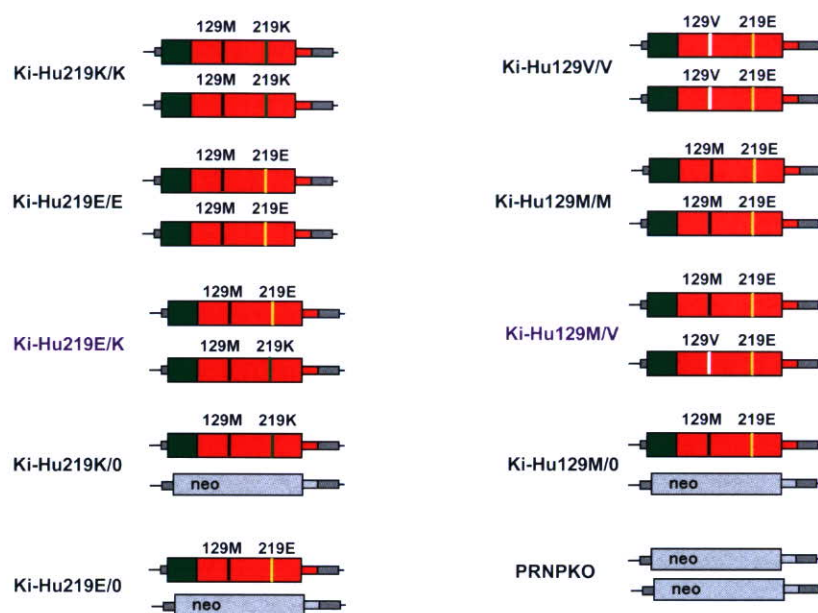


Fig 1. Knock-in mice

Table 1. Transmission to Ki-Hu 219 mice

Mouse	Inoculum	Incubation period
Ki-Hu129M/M (Ki-Hu219E/E)	sCJDMM1(H3)	467±24 (8/8)
Ki-Hu219K/K	sCJDMM1(H3)	573±103 (5/5)
Ki-Hu219K/K	sCJDMM1(Su)	643±146 (5/5)
Ki-Hu219K/K	vCJD05/02	412±6 (3/4)

Intracerebral inoculation

## 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病プリオンの cross-sequence transmission は新たなプリオン株を生み出す

分担研究者：小林 篤史 東北大学大学院医学系研究科 CJD 早期診断・治療法開発分野  
研究協力者：毛利 資郎 動物衛生研究所プリオン病研究センター  
研究協力者：北本 哲之 東北大学大学院医学系研究科 CJD 早期診断・治療法開発分野

### 研究要旨

硬膜移植関連クロイツフェルト・ヤコブ病（dCJD）には異なる病型を示す 2 つのグループ（プラーク型と非プラーク型）が存在するが、その原因は明らかではなかった。そこで本研究では dCJD の感染源を明らかにするために孤発性 CJD（sCJD）プリオンおよび dCJD プリオンの PrP ヒト型マウスへの感染実験を行った。sCJD プリオンの脳内接種実験では遺伝子型が異なるプリオン-宿主間の感染（cross-sequence transmission）の場合、長い潜伏期間が観察された。そして sCJD-VV2 プリオンを接種した 129M/M マウスの脳には多数の PrP 斑状沈着が認められ、タイプ 1 とタイプ 2 の間に位置する中間タイプの PrP<sup>res</sup> が蓄積していた。そこで dCJD 患者脳に蓄積している PrP<sup>res</sup> をあらためて比較すると、非プラーク型 dCJD ではタイプ 1 PrP<sup>res</sup> であったのに対し、プラーク型 dCJD では分子量の小さい中間タイプであることが明らかとなった。プラーク型 dCJD プリオンの脳内接種実験では cross-sequence transmission にも関わらず 129V/V マウスの方が高い感受性を示した。しかも脳内の PrP<sup>res</sup> を比較すると 129M/M マウスでは中間タイプであったのに対し、129V/V マウスではタイプ 2 PrP<sup>res</sup> が蓄積していた。これらの結果から sCJD-VV2 プリオンの 129M/M のヒトへの感染がプラーク型 dCJD を引き起こした可能性が強く示唆された。

### A. 研究目的

硬膜移植関連クロイツフェルト・ヤコブ病（dCJD）には、臨床経過が短く脳内にプリオン蛋白（PrP）のシナプス型沈着を伴う症例（np-dCJD）と臨床経過が長く脳内に PrP の斑状沈着を伴う症例（p-dCJD）とが存在する。いずれの症例も PrP 遺伝子コドン 129 の遺伝子型はメチオニンホモ接合（129M/M）であるにも関わらず異なる病型を示す理由は不明であった。そこで p-dCJD の感染源を明らかにするために孤発性 CJD（sCJD）プリオンおよび dCJD プリオンの PrP ヒト型マウスへの感染実験を行った。

### B. 研究方法

接種材料には MM1 型（sCJD-MM1）あるいは VV2 型（sCJD-VV2）の sCJD プリオン、np-dCJD プリオン、p-dCJD プリオンを用いた。これらのプリオンを 129M/M あるいは 129V/V の PrP ヒト型マウスに脳内接種あるいは腹腔内接種し、感受性、病理像、蓄積した異常型プリオン蛋白（PrP<sup>res</sup>）の分子量を比較した。

### （倫理面への配慮）

ヒトを対象とした研究に際しては東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会の規定に従



い研究を行った。また動物実験に関しては九州大学動物実験に関する指針を遵守した。

### C. 研究結果

sCJD プリオンの脳内接種実験では遺伝子型が異なるプリオン-宿主間の感染 (cross-sequence transmission) の場合、長い潜伏期間が観察された。そして sCJD-VV2 プリオンを接種した 129M/M マウスの脳には多数の PrP<sup>res</sup> 斑状沈着が認められ、タイプ 1 (21kDa) とタイプ 2 (19kDa) の間に位置する中間タイプの PrP<sup>res</sup> が蓄積していた (図 1)。

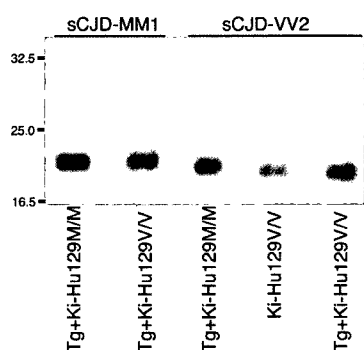


図 1. sCJD プリオン接種マウス脳内の PrP<sup>res</sup>

そこで dCJD 患者脳に蓄積している PrP<sup>res</sup> をあらためて比較すると、np-dCJD ではタイプ 1 PrP<sup>res</sup> であったのに対し、p-dCJD では分子量の小さい中間タイプであることが明らかとなった (図 2)。

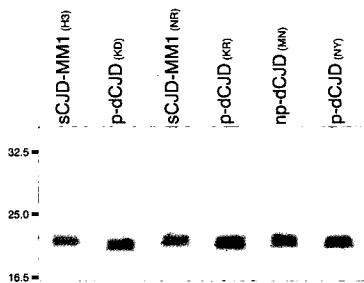


図 2. dCJD 患者脳内の PrP<sup>res</sup>

p-dCJD プリオンの脳内接種実験では cross-sequence transmission にも関わらず 129V/V マウスの方が高い感受性を示した (表 1)。

表 1. p-dCJD 接種マウスの潜伏期間

接種材料	遺伝子型	潜伏期間 days ± SEM (n/n <sup>0</sup> )	
		129M/Mマウス	129V/Vマウス
<b>p-dCJD</b>			
KR	129M/M	420 ± 10 (5/5)	259 ± 6 (6/6)
KD	129M/M	398 ± 10 (5/5)	304 ± 13 (6/6)
TV	129M/M	584 ± 65 (5/5)	N.D.
<b>sCJD-VV2</b>			
AK	129V/V	505 ± 14 (5/5)	312 ± 7 (4/4)

しかも脳内の PrP<sup>res</sup> を比較すると 129M/M マウスでは中間タイプであったのに対し、129V/V マウスではタイプ 2 PrP<sup>res</sup> が蓄積していた (図 3)。p-dCJD プリオンの腹腔内接種実験でも 129V/V マウスの方が高い感受性を示し、その脾臓にはタイプ 2 PrP<sup>res</sup> が蓄積することが確認された。

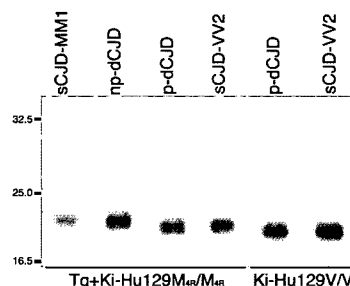


図 3. dCJD プリオン接種マウス脳内の PrP<sup>res</sup>

### D. 考察

これらの結果は sCJD-VV2 プリオンの 129M/M のヒトへの感染が p-dCJD を引き起こした可能性を強く示唆している。本研究のような traceback 実験はプリオンの由来を同定するための有用な手段となることが示された。

### E. 結論

sCJD-VV2 プリオンが p-dCJD の原因となりうることを明らかにした。

### F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kobayashi A, Asano M, Mohri S, Kitamoto T. Cross-sequence transmission of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease creates a new prion strain. J Biol Chem 2007; 282: 30022-30028.

### 2. 学会発表

1. 小林篤史. 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病プリオンの cross-sequence transmission は新たなプリオン株を生み出す. プリオン研究会. 新潟, 2007.8.25.
2. Kobayashi A. Cross-sequence transmission of sporadic Creutzfeldt-

Jakob disease creates a new prion strain. Cambridge Healthtech Institute's Transmissible spongiform encephalopathies. Baltimore, 2008.2.11.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

特になし

### 2. 実用新案登録

特になし

### 3. その他

特になし

致死性家族性不眠症の 1 家系  
—咽頭違和感で発症した死亡時 55 歳男性例を中心に—

研究協力者：有馬 邦正 国立精神・神経センター武蔵病院同臨床検査部  
研究協力者：斉藤 勇二 国立精神・神経センター武蔵病院神経内科  
研究協力者：大矢 寧 国立精神・神経センター武蔵病院神経内科  
研究協力者：田ヶ谷浩邦 国立精神・神経センター武蔵病院同臨床検査部  
研究協力者：北本 哲之 東北大学大学院医学系研究科創生応用医学研究センター  
プリオン蛋白研究部門  
研究協力者：小川 雅文 国立精神・神経センター武蔵病院神経内科  
研究協力者：村田 美穂 国立精神・神経センター武蔵病院神経内科  
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

研究要旨

プリオン蛋白 (PrP) 遺伝子 D178N 変異 codon 129 MM 多型を持つ発端者は 54 歳時に発病し、致死性家族性不眠症 (fatal familial insomnia, FFI) の臨床診断で、14 ヶ月で死亡した。神経病理学的検索では、PrP 免疫組織化学は陰性で、海綿状変化は軽度限局性であり、大脳皮質の変性は軽度であった。視床正中中心核、下オリーブ核に神経細胞脱落を認めた。脳の Western blot では少量の異常 PrP を認め病理学的診断も FFI であった。

発端者の母は PrP 遺伝子診断は発端者と同じ (D178N 変異, 129 MM 多型) であったが、Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) の臨床病理診断であった。大脳皮質に広汎にシナプス型の PrP 沈着と海綿状変化を認めた。同一家系内の D178N 変異, 129 MM 多型の 2 例が FFI と CJD の異なった臨床・病理表現形を示していた。

A. 研究目的

プリオン蛋白 (PrP) 遺伝子 D178N 変異は、D178N-129MV は家族性 Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) を、D178N-129MM は致死性家族性不眠症 (fatal familial insomnia, FFI) を起こす。FFI の家系内には CJD の臨床・病理表現形をとるものがあり、129MV 多型と関連付けられている<sup>1</sup>。D178N-129MM の臨床病理学的スペクトラムを明らかにするために、FFI の発端者と、その母で CJD と臨床病理診断された例を比較検討した。

B. 研究方法

発端者の臨床症状、病理学的変化、PrP 免疫組織化学、PrP 遺伝子診断、脳の PrP Western blotting を詳細に検討し、母の結果と比較検討した。また、文献的考察を行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子診断、剖検の実施、剖検脳を用いた研究は当センター倫理委員会で承認を受けた手順に従い、インフォームドコンセントの範囲内で行った。また、感染性検体は十分な感染防御体制で取り扱った。

## C. 研究結果

### 【発端者の臨症および病理学的事項】

(家族歴) 発端者の同胞は 50 歳代で健康，母方の祖父母は 90 歳前後で死亡．発端者の母の同胞に，48 歳時に徘徊で発症し，経過約 1 年で死亡した女性がいる．

(発端者の臨床情報) 死亡時 55 歳男性．54 歳，嚥下困難感で発症．発症 2 ヶ月，睡眠中のうなり声や異常行動，不眠が出現．発症 4 ヶ月，動作時振戦や自律神経障害を認めた．発症 5 ヶ月，軽度の物忘れ出現．発症 7 ヶ月，起立・歩行時のふらつき出現．発症 8 ヶ月の当科入院時 MMSE 27 点．小脳性運動失調と自律神経障害，ミオクローヌスを認めた．睡眠中でも体動を繰り返していた．発症 9 ヶ月，認知機能が急速に悪化．嚥下障害も悪化．発症 10 ヶ月，MMSE 22 点．頭部 MRI は軽度大脳・小脳萎縮と視床萎縮あり．拡散強調画像は異常なし．脳波は PSD なし．一般髄液検査は異常なし．ポリソムノグラフィーでは REM 睡眠が欠如し，脳波上はほとんど覚醒．PrP 遺伝子検査では N178D 変異，129 MM 多型で FFI と診断．発症 11 ヶ月，誤嚥性肺炎を合併し，以後経管栄養．その後も失調があったが，無言無動には至らず，発症 14 ヶ月に呼吸不全で死亡．

(神経病理学的事項) 脳重量 1190g，小脳+脳幹 150g．右半脳は凍結保存し，左半脳を組織学的に検索．大脳の脳回の萎縮は目立たず．大脳深部白質は斑状に灰色状．基底核はやや小さく，視床は褐色調で内側部が小さい．小脳はやや扁平．下オリーブ核の膨らみが少なく内部構造が不明瞭．視神経，乳頭体は著変なし．大脳皮質は概ね保たれていた．海綿状変化は支脚と一部の大脳皮質表層に局限していた．視床の中心正中核と背内側核は神経細胞脱落とグリオシスを認めた．下オリーブ核は腹外側部を除いて高度の神経細胞脱落とグリオシスを認めた．抗 PrP 免疫染色で異常プリオンは大脳・視床・下オリーブ核の

すべてで陰性．神経病理学的診断は FFI また，橋正中部に径 1.5mm の新しい梗塞巣を認めた．

(PrP Western blotting) 少量であるが FFI に特有の PrP を認めた．

### 【発端者の母の臨症および病理学的事項】

(臨床・病情報) 死亡時 61 歳女性．60 歳，進行性の記憶障害で発症．頭部 CT は軽度の大脳萎縮のみ．発症 16 ヶ月で死亡 (61 歳)．臨床診断は CJD 疑い．病理学的検索では大脳皮質に広汎に海綿状変化を認めた．視床と下オリーブ核には軽度-中等度の神経細胞脱落を認めた．1980 年代後半に亜急性海綿状脳症 (CJD) の病理診断でファイルされていた．パラフィンブロックを脱パラ後に蟻酸処理した抗 PrP 免疫組織化学では，大脳皮質，視床，下オリーブ核などに広汎にシナプス型陽性染色が認められ，病理診断が CJD であることが確認された．PrP 遺伝子検査では発端者と同様の D178N 変異と 129 MM 多型を認めた．2 例の比較を表 1 に示す．

## D. 考察

発端者 (PrP D178N-129MM) は臨床症状・病理学的所見とも FFI に合致した．一方母は PrP D178N-129MM であったが，臨床症状，海綿状変化の分布，PrP の沈着を含めて，FFI とは異なり，CJD に一致していた．D178N 変異で，129MM では FFI の病理像を示し，129MV では CJD の病理像を示すことが知られているが，本家系では codon 129 の多型以外の要因が FFI/CJD の PrP の病態に影響したと考える．文献検索では，Zarranz らの家系 4 に，129MM で臨床・病理診断が FFI と CJD の患者が報告されている。<sup>2</sup> 本家系は D178N 変異患者での異常 PrP の病態と FFI と CJD の臨床病理表現形の形成について重要な示唆を与える．

## E. 結論

PrP D178N 家系の 129MM の FFI の 1 剖検例を報告し、同じ遺伝子変異・多型 (PrP D178N-129MM) を示した母との臨床病理表現形の相違について考察した。129MM 多型で CJD を呈する例があること、表現型に他の因子が関与していることが明らかになった。

## [参考文献]

1. Parchi P et al. Molecular pathology of fatal familial insomnia. *Brain Pathology* 1998; 8: 539-548.
2. Zarranz JJ et al. Phenotypic variability in familial prion diseases due to the D178N mutation. *J Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2005; 76: 1491-1496.

## F. 健康危険情報

FFI の脳は高感染性組織であるが、このこと以外に新たな健康危険情報はない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

特になし

### 2. 学会発表

1. 齋藤勇二 他. 致死性家族性不眠症の一家系. 第 181 回日本神経学会関東地方会, 東京, 2007.6.2.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得:

特になし

### 2. 実用新案登録:

特になし

### 3. その他

特になし

表 1. FFI 家系 2 剖検例 (PrP D178N-129MM) の比較

患者	発症/死亡, 性 経過月数	臨床診断	病理診断 脳重量	PrP 免疫 組織化学	PrP Western blot	海綿状 変化	視床・下オリーブの 神経細胞脱落
発端者 (子)	54/55 歳, 男 14 月	FFI	FFI 1190g	陰性	少量	限局性	2+~3+
母	60/61 歳, 女 16 月	CJD	CJD 1080g	シナプス 型		広範	0~1+

表 2. PrP D178N の家系で 129MM の患者の臨床病理報告

患者	PrP codon 129	臨床診断	病理所見
Harder et al. 1999, 家系 B			
X-7	MM	OPCA (不眠, 筋力低下, 体重 減→混迷, 構音障害→傾眠)	海綿状変化: 局所的 (前頭・頭頂葉, 基底核, 脳幹). 下オリーブと小脳に神経細胞脱落
X-9	MM	MSA (疲労, 筋力低下, 落ち着 きなさ, 日内変動消失)	なし
X-21	MM	CJD	海綿状変化なし. 視床に高度神経細胞脱落. 下オリーブは神経細胞脱落.
Zarranz et al. 2005, 家系 4			
III-5	MM	CJD	PrP+. 海綿状変化: 皮質・基底核にびまん性. 神経細胞脱落は皮質・基底核
III-6	MM	FFI	PrP-. 視床・下オリーブ核に高度神経細胞脱 落
Zarranz et al. 2005, 家系 6			
II-5	MM	FFI	PrP+. 視床・下オリーブ・小脳の変性.
II-7	MM	CJD (失調)	なし
II-9	MM	FFI	PrP-. 視床・下オリーブ・小脳の変性.
III-12	MM	CJD	なし
提示家系			
発端者 (子)	MM	FFI	PrP-, 海綿状変化: 限局性. 視床・下オリ ーブの神経細胞脱落
母	MM	CJD	PrP+, 海綿状変化: 皮質に広汎. 視床・下オ リーブの神経細胞脱落なし

## 遺伝性 Creutzfeldt- Jakob 病 V180I の動的神経病理

分担協力者：村山 繁雄 東京都老人総合研究所高齢者ブレインバンク  
研究協力者：齊藤 祐子 東京都老人医療センター剖検病理科  
研究協力者：金丸 和富 東京都老人医療センター神経内科  
研究協力者：徳丸 阿耶 東京都老人医療センター放射線科  
研究協力者：石井 賢二 東京都老人総合研究所ポジトロン研究施設  
研究協力者：小林 俊輔 亀田総合病院神経内科・東京大学大学院医学系研究科神経内科

### 研究要旨

Creutzfeldt- Jakob 病 (CJD) prion 遺伝子 V180I 変異 3 自験例の動的神経病理所見（臨床・画像・病理連関）を報告する。

症例 1 は死亡時 70 歳女性 (129 Met/ Met)。死亡 1 年 3 ヶ月前記憶障害で初発。2 ヶ月後 HDSR 3 点、7 ヶ月流暢失語、8 ヶ月無動無言、ミオクロヌス出現、EEG 上 PSD なし。敗血症で死亡。MRI 上側頭葉皮質が腫大やがて萎縮し、かわって前頭葉皮質が腫大する変化を認め、巣症状は皮質腫大部位と対応した。神経病理学的に、MRI 上の新しく皮質が腫大した部位は皮質全層にわたる著明な海綿状変化を認め、萎縮部位は典型的 CJD により近い像であった。免疫組織学的にプリオン沈着はシナプス型であるが極めて微量で、免疫ブロット上も異常プリオンは極微量であった。超微形態的に、神経細胞体が多数の空胞により、圧排される所見を確認した。

症例 2 は 70 歳女性。129 Met/ Met。受診 1 年 3 ヶ月前より人の言ったことが理解できないことで初発。発症後 1 ヶ月、近医にて MRI 撮像し CJD と診断されたが。緩徐進行性の経過に家族が納得できず、ドクターショッピングでレビー小体型認知症の診断で塩酸ドネペジル投与、1 年 3 ヶ月後 PET を希望し当施設初診。開眼、発語無し、従命不可、坐位可能、介助車椅子、経口摂取。強制把握反射、全身に著明な筋強剛、ミオクロヌスあるも、EEG 上 PSD なし。MRI 上 DWI で皮質に地図状に不均一な高信号域をび漫性認め、同部は FDG- PET で糖代謝低下、<sup>11</sup>C-PIB (Pittsburgh Compound B) - PET では集積なし。

症例 3 は 82 歳男性。Codon 129 Met/ Val、V180I は 129Met の上に存在。7 ヶ月前右手の動きが悪くなり、6 ヶ月前言葉が出にくくなり、5 ヶ月前某大神経内科でアルツハイマー病 (AD) の診断、塩酸ドネペジル投与開始。1 ヶ月前 PET 目的に同大眼科より PET 目的で当施設紹介。MMSE 0/30、言語の復唱・理解はある程度可だが書字不能。両側強制把握反射あるが、深部反射正常、筋強剛なし、不随意運動なし、病的反射なし。手引き歩行可だが、体幹動揺強い。頭部 MRI DWI で高信号領域が広範囲に存在。髄液タウ 3131.3pg/ml。FDG は DWI の高信号域に一致し低下。FMZ (flumazenil : benzodiazepin 受容体標識、神経細胞数とほぼ一致) は FDG に比し程度は軽いが、同様に低下を認めた。

V180I は初期緩徐進行性のため、他の認知症疾患と誤診される可能性がに留意が必要である。組織学的にも、MRI、機能画像上も特徴的であることが確認された。V180I の PET 所見の記載は我々の知る限り、この報告がはじめてである。

## A. 研究目的

遺伝性 Creutzfeldt-Jakob 病(CJD)V180I 変異は、本邦の遺伝性 CJD 中最多であるが、臨床・画像・病理所見は、神経内科専門医の中でもあまり知られていない。家族発症が認められないこと、伝搬実験が陰性であること、プリオン沈着が極微量であること、特徴的臨床・画像・病理所見を呈すること等、多くの未解決の問題点を含む。

我々は、臨床・画像・病理連関としての、動的神経病理学的検索を行った三例を呈示し、この問題の一部に回答を与えることを試みた。

## B. 研究方法

### (倫理面への配慮)

症例：高齢者ブレインバンクプロジェクトとして、縦断的臨床症状の追求・PET 画像を含む画像診断・最終病理所見を得る努力をおこなった V180I 3 症例を報告する。

遺伝子診断は、いずれも東北大学プリオン研究施設、北本博士により、ご家族の同施設文書同意の元に、試行した。症例 1 の病理解剖は、剖検施設の文書同意によった。当該肢節剖検症例を、ブレインバンクプロジェクトに含める点については、当該施設倫理委員会の承認を得た。

## C. 研究結果

**症例 1:** 死亡時 70 歳女性。臨床・画像所見は臨床神経報告済み (1)。

プリオン遺伝子：129 Met/ Met 多型。V180I 変異をヘテロで認める。

主訴：進行性認知障害

家族歴・既往歴：特記すべきことなし。

臨床経過：死亡 1 年 3 ヶ月前記憶障害で初発。2 ヶ月後 HDSR 3 点、神経学的異常なし。徘徊、oral tendency、盗癖あり、MRI 上側頭葉皮質のび漫性腫大を認めた。発症 7 ヶ月、多弁・流暢失語、滞続言語が出現した。腫大した側頭葉皮質は徐々に萎縮し、逆にこれまで腫大のなかった前頭・頭頂葉に、腫大を認めるようになった (図 1.)。これは、大まかにみて、側頭葉皮質症状が主体の症状から、前頭・頭頂葉に広がったことが、臨床症状の変化に対応する可能性が考えられた。発症後 8 ヶ月で無言無動となり、ミオクローヌス出現するも、EEG 上 PSD はなかった。MRI の経時的観察では、先に腫大した部位は萎縮傾向を示し、新たに腫大部位が出現する変化を認めた。最終的に、敗血症で死亡した。神経病理所見：死後時間？。脳重？。

MRI 撮像上最後に新しく皮質が腫大した部位としての前頭葉弓隆部は、皮質全層にわたる著明な海綿状変化を認め (図 2)、一方最初に腫大し、その後萎縮を示した側頭葉は神経細胞脱落が著明で、海綿状態は存在するが、典型的 CJD により近い像であった (図 3)。免疫組織学的にプリオン沈着はシナプス型であるが、極めて微量であった (図 4)。超微形態的に、神経細胞体が多数の空胞により、圧排される所見を確認した。免疫プロット上も異常プリオンは極微量であった。

**症例 2:** 70 歳女性。  
プリオン遺伝子：129 Met/ Met 多型。V180I 変異をヘテロで認める。  
主訴：進行性認知障害  
家族歴、既往歴：特記すべき所見なし  
臨床経過：受診 1 年 3 ヶ月前より人の言ったことが理解できず、電話の応対ができないことで初発した。歩行時に体が傾く傾向をみた。発症後 1 ヶ月、近医にて MRI 撮像し、CJD と診断された。発症後 2 ヶ月、幻覚、夜間せ



ん妄、失見当識、失禁あるも、給与計算は可  
だった。発症3ヶ月後、発語が減少してきた。  
家族は CJD サポートネットワークホームページの  
情報から、CJD の診断を信用できず、4ヶ月後  
某院受診、パーキンソン症状、認知症の診断  
で、塩酸ドネペジル投与が開始された。1年3  
ヶ月後、テレビ報道で、アルツハイマー病  
(AD) の診断に PET 検査が有用であることを  
知り、当施設初診した。栄養状態良好で、開  
眼しているが発語無く、口頭指示も入らな  
かった。坐位は可能で、介助車椅子レベル  
だが、経口摂取は介助で可能であった。強  
制把握反射あり、全身に著明な筋強剛、ミ  
オクローヌスを認めた。深部反射はアキレス  
腱を除き亢進、Babinski 徴候は逃避反射の  
ため不明であった。EEG 上 PSD は認めな  
かった。MRI 上 DWI で皮質に地図状に不均  
一な高信号域を認め、皮質は腫大していた。  
FDG-PET では、MRI 上の DWI 高信号域に  
ほぼ一致し、後頭葉・小脳を除く著明な糖  
代謝低下を認めたが、視床は比較的保存さ  
れており、MM type II との差の可能性が考  
えられた。<sup>11</sup>C-PIB (Pittsburgh Compound B) -  
PET で大脳皮質・基底核に集積を認めな  
かった(図6)。

その後、無言性無動の状態となり、誤嚥  
性肺炎を繰り返す状態となっている。

**症例 3:** 82 歳男性。

プリオン遺伝子: Codon 129 Met/ Val、V180I  
は 129Met の上に存在。

主訴: 進行性認知障害

家族歴・既往歴に特記すべきことなし。

臨床経過: 7ヶ月前右手の動きが悪いも  
MRI 上異常なしと言われた。6ヶ月前言葉  
が出にくくなった。5ヶ月前、某大神経内  
科で AD の診断を受け、4ヶ月前より塩酸  
ドネペジル投与が開始された。自発語・書  
字ともなくなり、歩行障害、尿失禁出現。  
1ヶ月前同大眼科より、AD にしては進行  
が早すぎるとして、PET 目的で当施設紹  
介初診となった。神経学

的に、MMSE 0/30、言語の復唱・理解は  
ある程度可だが書字不能であった。両側  
強制把握反射はあるが、深部反射正常、  
筋強剛なく、不随意運動なし、病的反  
射なしであった。手引き歩行可だが、  
体幹動揺が強かった。検査所見では、  
髄液タウが 3131.3pg/ml (正常 300  
以下) と、著明な高値を示した。FDG  
は DWI の高信号域に一致し低下して  
いた。また FMZ (flumazenil: benzodiazepin  
受容体標識、神経細胞数とほぼ一致)  
は FDG に比し程度は軽いが、同様の  
低下を認めた。

#### D. 考察

V180I 変異を持つ CJD は、本邦で特  
に頻度が高いが、特徴的臨床・画像・  
病理変化にもかかわらず、初期に緩  
徐進行性の経過をとるため、誤診さ  
れる傾向が明らかとなった。

本研究により、CJD にみられる神経  
突起の腫大が極端に強調され、それ  
が長期持続することが、病像を規定  
している特徴が明らかになった。こ  
の腫大変化部でのプリオン沈着は軽  
微で、プリオン沈着により二次的に  
引き起こされたものではないことは、  
これまでの検討と一致する。

PET 検査では、腫大部位ではシナ  
プス伝達が細胞脱落に先行するが、  
細胞脱落も徐々に進行していく経緯  
が示唆された。また、PIB-PET でア  
ミロイド沈着を認めない点は、AD  
の合併の除外には有用であろう。

3例とも脳波上 PSD の所見は認め  
なかった。画像所見上は、MRI の  
DWI よりも、むしろ T1WI での皮  
質腫大の方が、特徴的であり、い  
ずれにせよ経過を追わないと確定  
診断は困難で、発症初期の診断に  
は、形態画像・機能画像・髄液バ  
イオマーカーを用いた総合的評価  
が必要であると考えられる。

#### E. 結論

V180I 例の、臨床・画像・病理連  
関(動的神経病理)を報告、特徴的  
病態に基づく早期

診断の可能性を述べた。

[参考文献]

1. 小林俊輔ら：臨床神経 1997; 37: 671-674.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. J. Neuro. Sci (submitted)

2. 学会発表

特になし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

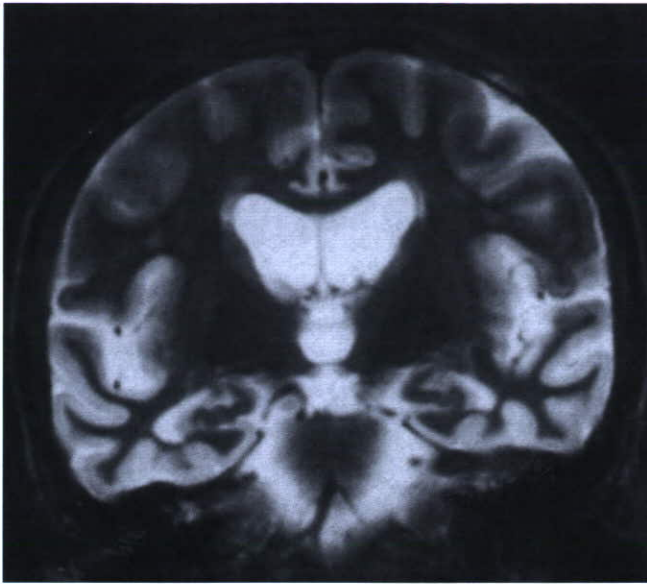


図 1. 症例 1. T2 強調画像。側頭葉皮質の高輝度と腫大を認める。

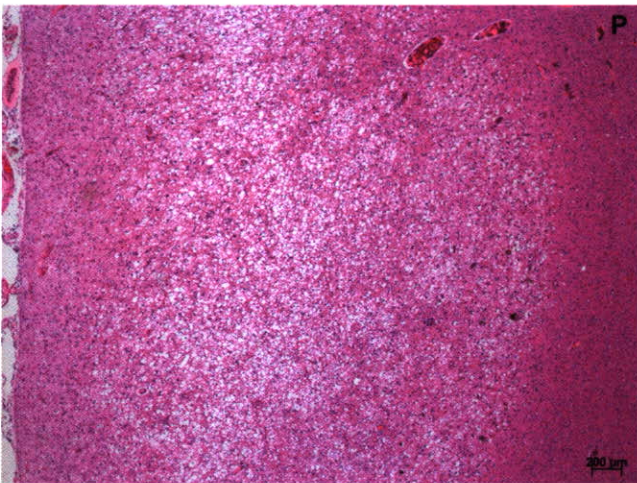


図 2. 症例 1、頭頂葉皮質。全体のびまん性海綿状変化を認める。

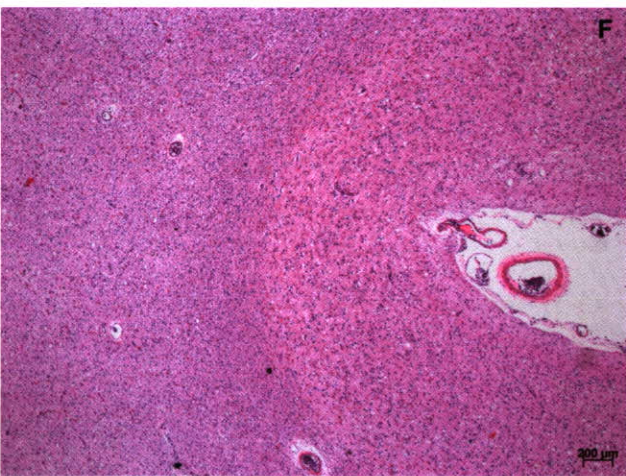


図 3. 症例 1. 側頭葉皮質。腫大から萎縮に以降した部位は、典型的 CJD の病変に類似する。

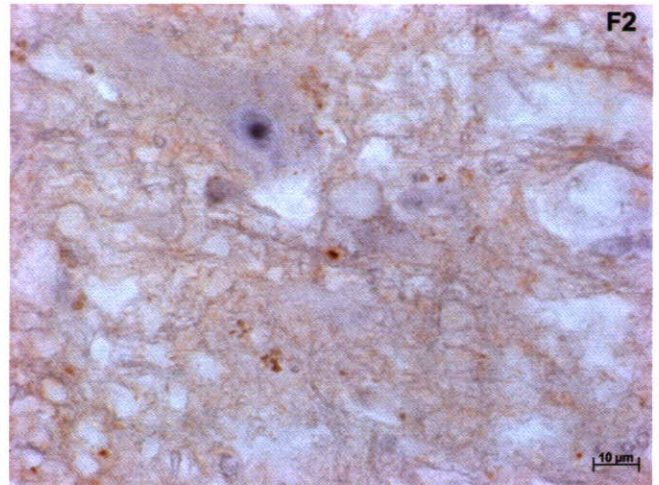


図 4. 同部のプリオン沈着は極軽度である。

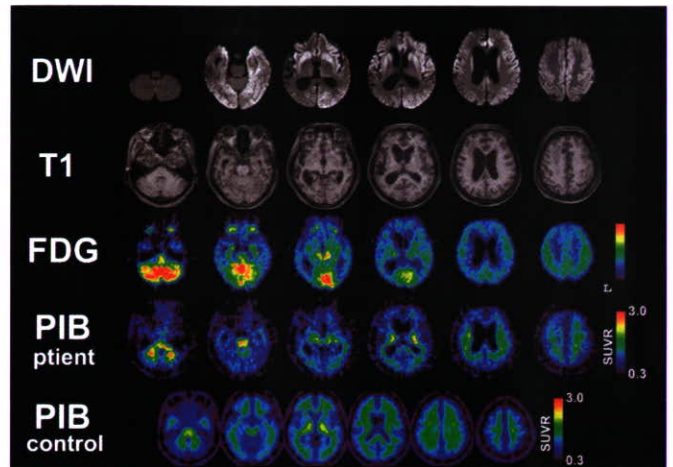


図 5. 症例 2 の形態・機能画像。DWI: 拡散強調画像。T1: T1 強調画像。FDG:  $^{11}\text{F}$ -Deoxyglucose PET。PIB: Pittsburgh Compound B。Patient: 本例、control: 正常対象。DWI 高輝度に一致し、T1 強調像で皮質腫大が存在する。同部は FDG で代謝低下を認める。PIB は陰性である。

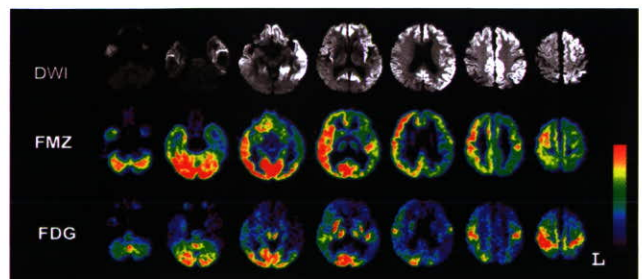


図 6. 症例 3 の形態機能画像。FMZ: flumazenil PET 所見。他の略語は図 5 と同じ。DWI 高輝度にほぼ一致し、FMZ の低下を認める。FDG の低下はより高度、広範囲である。

## 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持続投与療法に関する検討

分担研究者：山田 達夫 福岡大学医学部神経内科学

研究協力者：坪井 義夫 福岡大学医学部神経内科学

### 研究要旨

プリオン病は、発病後、その病型かかわらず、進行性、致死性の経過をたどる。これまでに有効とされる治療薬はなく、実験的に異常プリオン蛋白の蓄積を防ぐ可能性のある、効果的な薬剤の検討が行われてきた。その中でペントサンポリサルフェートの脳室内持続投与は、スクレイピー感染マウスモデルで著しい発病の遅延を認めた薬剤である。2003年に英国で、はじめて臨床応用が行われ、本邦でも2004年11月から、2007年3月までに11例に対して同治療が行われた。病型は孤発性CJD6例、硬膜移植後医原性CJDが2例、家族性CJD（GSS1例を含む）が3例であった。治療開始からの経過は9ヶ月から31ヶ月で、PPS注入濃度は120 $\mu$ g/kg/dayとした。治療前のmodified Rankin Scaleは2-5で、現在は全例5-6になっており症状の進行がみられた。周術期において問題は生じなかったが、手術後3ヶ月以降に11例中10例にさまざまな程度の硬膜下水腫が認められ、痙攣発作が1例に認められた。PPSに関連したと思われる血液データ（血算、生化学、凝固能）の異常は認められなかった。症状の改善は見られなかったが、治療開始後2年以上の比較的長期生存例もあり、延命効果に関しては今後の経過の検討が必要であると思われた。PPS脳室内持続投与は、比較的安全で長期治療にも耐えうる治療法であると考えられる。

### A. 研究目的

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、いまだ致死性の神経難病であり、その有効な治療法は確立されていない。本邦で、現在も発生が続いているヒト死体由来の乾燥硬膜の移植による医原性プリオン病や、欧州で多発した、ウシ海綿状脳症に関連した変異型CJDも、その広がりや危険されている。ペントサンポリサルフェート（PPS）はマウスを用いたプリオン蛋白感染実験において、脳室内持続投与により発症遅延効果が確認された薬物である。PPS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。本研究では、体内埋め込み型微

量注入器具を用いたPPS脳室内投与療法のプロトコルを確立し、本邦のプリオン病患者に応用して同治療の安全性と患者の生命予後改善への効果を明らかにすることを目的とする。

### B. 研究方法

PPS脳室内持続投与法のプロトコルに関しては、昨年度とPPSの濃度を除いては変更がない。概略を述べると、プリオン病の診断は、WHOの診断基準に従った。体内埋め込み型微量注入器具（Archimedes®20 ml reservoir, Flow rate 0.5 ml/24h, Codman Inc., Germany）および脳室内カテーテルの