

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

平成17～19年度 総合研究報告書

**The 2005～2007 Summary Report of the Research
Committee on Prion disease and Slow Virus Infection,
Research on Measures for Intractable Diseases Health and
Labour Sciences Research Grants, The Ministry of Health,
Labour and Welfare, Japan**

2008年3月
March, 2008

主任研究者 水澤英洋

Chairman: Hidehiro Mizusawa, M.D. Ph.D.

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(神経内科学)分野

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

目 次

I. 総合研究報告

プリオン病及び遅発性ウイルスに関する調査研究	1
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(神経内科学)	

II. 資 料

毛利 資郎	動物衛生研究所プリオン病研究センター	33
三好 一郎	名古屋市立大学大学院医学研究科実験動物研究教育センター	37
金子 清俊	東京医科大学医学部神経生理学講座	41
桑田 一夫	岐阜大学人獣感染防御研究センター	47
佐伯 圭一	東京大学大学院農学生命科学研究科食の安全研究センター	51
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	54
堀内 基広	北海道大学大学院獣医学研究科	57
坂口 末廣	徳島大学疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門	61
松田 治男	広島大学大学院生物圏科学研究科免疫生物学	67
横山 隆	動物衛生研究所プリオン病研究センタープリオン病研究チーム	73
堂浦 克美	東北大学大学院医学系研究科プリオン蛋白分子解析分野	77
山田 達夫	福岡大学医学部神経内科	81
調 漸	長崎大学医学部・歯学部病院へき地病院再生支援教育機構	87
岩城 徹	九州大学大学院医学研究院神経病理学分野	92
村山 繁雄	東京都老人総合研究所高齢者ブレインバンク	97
湯浅 龍彦	国立精神・神経センター国府台病院	100
三條 伸夫	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 (神経内科学)	105
中村 好一	自治医科大学公衆衛生学教室	110
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(神経内科学)	120
市山 高志	山口大学医学部附属病院小児科	125
細矢 光亮	福島県立医科大学小児科学講座	128
楠原 浩一	九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野(小児科)	133
堀田 博	神戸大学大学院医学系研究科微生物学分野	141
網 康至	国立感染症研究所動物管理室村山分室	155

柳 雄介	九州大学大学院医学研究院(ウイルス学分野)	159
澤 洋文	北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門	163
岸田 修二	東京都立駒込病院脳神経内科	169
倉根 一郎	国立感染症研究所ウイルス第一部	174
志賀 裕正	仙台富沢病院内科	178
黒岩 義之	横浜市立大学医学部大学院医学研究科神経内科	184
古川ひさ子	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子解析学	188
佐多徹太郎	国立感染症研究所・感染病理部	191
田村智英子	お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科 特設遺伝カウンセリングコース	193
新 竜一郎	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子解析学	198
田中 元雅	独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター 田中研究ユニット	201
高須 俊明	医療法人崇徳会長岡西病院神経内科	203
飯沼 一字	石巻赤十字病院	210
野村 恵子	熊本大学医学部附属病院発達小児科	214
岡 明	東京大学大学院医学系研究科発達医科学	219
長嶋 和郎	北海道大学医学部分子細胞病理	223
原 由紀子	杏林大学医学部病理学教室	226
黒田 康夫	佐賀大学内科	229
二瓶 健次	東京西徳洲会病院小児難病センター	231
余郷 嘉明	東京大学医学部附属病院泌尿器科	235

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	241
-------------------------	-----

I . 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 17～19 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 などの検査法の標準化を行い、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、細胞内輸送に関わる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

- | | |
|---|--|
| 毛利資郎：農業・生物系特定産業技術研究機構
動物衛生研究所プリオン病研究センター センター長 (H17-H19) | 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 助教
(H18-H19) |
| 三好一郎：公立大学法人名古屋市立大学実験動物研究センター 特任教授 (H17-H19) | 堀内基広：北海道大学大学院獣医学研究科プリオン病学講座 教授 (H17-H19) |
| 金子清俊：東京医科大学医学部神経生理学講座
教授 金子清俊 (H17-H19) | 坂口末廣：徳島大学疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門 教授 (H17- H19) |
| 桑田一夫：岐阜大学人獣感染防御研究センター
プリオン病研究部門 教授 (H18-H19) | 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 (H18-H19) |
| 佐伯圭一：東京大学大学院農学生命科学研究科
食の安全研究センター 助教 (H17-
H19) | 横山 隆：動物衛生研究所プリオン病研究センター
プリオン病研究チーム チーム
長 (H17-H19) |
| 村本 環：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 助教
(H17) | 堂浦克美：東北大学大学院医学系研究科プリオン
蛋白分子解析分野 教授 (H17-H19) |
| | 山田達夫：福岡大学医学部神経内科学 教授
(H17-H19) |

調 漸：長崎大学医学部・歯学部病院へき地
病院再生支援教育機構 機構長
(H17-H19)

岩城 徹：九州大学大学院医学研究院神経病理
学分野 教授(H17-H19)

村山繁雄：東京都老人総合研究所老年病ゲノム
解析研究チーム高齢者ブレインバン
ク 研究部長(H17-H19)

湯浅龍彦：国立精神・神経センター国府台病院
神経内科 部長(H17-H19)

三條伸夫：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(神経内科学)
分野 助教(H17-H19)

中村好一：自治医科大学地域医療センター公衆
衛生学教室 教授(H17-H19)

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(神経内科学) 教授
(H17-H19)

二瓶健次：身体障害者療護施設 横浜らいず 診
療所長(H17)

市山高志：山口大学医学部附属病院小児科 講
師(H17-H19)

細矢光亮：福島県立医科大学小児科学講座 教
授(H17-H19)

楠原浩一：九州大学大学院医学研究院成長発達
医学分野(小児科) 准教授(H17-H19)

堀田 博：神戸大学大学院医学系研究科微生物
学分野 教授(H17-H19)

網 康至：国立感染症研究所動物管理室 主任
研究官(H17-H19)

柳 雄介：九州大学大学院医学研究院ウイルス
学分野 教授(H18-H19)

澤 洋文：北海道大学人獣共通感染症リサーチ
センター分子病態・診断部門 教授
(H17-H19)

岸田修二：東京都立駒込病院脳神経内科 部長
(H17-H19)

倉根一郎：国立感染症研究所ウイルス第一部
部長(H19)

研究協力者

森若文雄：北海道医療大学心理科学部言語聴覚
療法学科 教授(H17-H19)

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 教授
(H17-H19)

志賀裕正：仙台富沢病院内科 医師(H17-H19)

西澤正豊：新潟大学脳研究所臨床神経科学部門
神経内科学分野 教授(H17-H19)

佐藤 猛：大和会東大和病院神経内科 顧問
(H17-H19)

黒岩義之：横浜市立大学医学部大学院医学研究
科神経内科 教授(H17-H19)

葛原茂樹：国立精神・神経センター武蔵病院 院
長(H17-H19)

武田雅俊：大阪大学大学院医学系研究科精神医
学講座 教授(H17-H19)

黒田重利：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
精神神経病態学教室 教授(H17-
H19)

村井弘之：飯塚病院神経内科 部長(H17-H19)

立石 潤：老人保健施設春風 施設長(H17-
H19)

古川ひさ子：長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
感染分子解析学 非常勤研究員
(H17-H19)

佐多徹太郎：国立感染症研究所感染病理学部 部
長(H18-H19)

田村智英子：お茶の水女子大学大学院人間文化創
成科学研究科特設遺伝カウンセリング
コース 准教授(H17-H19)

新 竜一郎：長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
感染分子解析学 助教(H19)

田中元雅：独立行政法人理化学研究所脳科学総
合研究センター田中研究ユニット
ユニットリーダー(H19)

高須俊明：医療法人崇徳会長岡西病院神経内科
顧問(H17-H19)

大塚頌子：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
発達神経病態学講座 教授(H17-H19)

飯沼一字：石巻赤十字病院 院長 (H17-H19)
野村恵子：熊本大学大学院医学薬学研究部小児
発達学 助教 (H17-H19)
愛波秀男：静岡県立こども病院指導相談室兼神
経科 室長・医長 (H19)
鈴木保宏：大阪府立母子保健総合医療センター
小児 神経科 主任部長 (H19)
岡 明：東京大学医学部小児科 准教授 (H19)
原 由紀子：杏林大学医学部病理学教室 助教
(H17-H19)
長嶋和郎：札幌東徳洲会病院病理 部長 (H17-
H19)
黒田康夫：佐賀大学医学部内科学講座 教授
(H17-H19)
余郷嘉明：東京大学医学部附属病院泌尿器科
研究員 (H17)

A. 研究目的

平成 17～19 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 (Subacute Sclerosing Panencephalitis : SSPE)、進行性多巣性白質脳症 (Progressive Multifocal Leukoencephalopathy : PML) の 3 疾患を対象とし、これら 3 疾患の発症のメカニズムを明らかにし、早期診断、早期治療、発症予防、感染予防などの方法を開発し、最終的には疾患を克服することを目的としている。具体的にはサーベイランス、調査等の疫学的研究を通じて疾患の実態と現状の把握に努め、疫学的側面から発症の危険因子を検討し、検査法や治療法の有用性の評価や改善に努める。とくに人獣共通感染症であるプリオン病では牛海綿状脳症 (Bovine Spongiform Encephalopathy : BSE) からの感染である変異型クロイツフェルトヤコブ病 (variant Creutzfeldt-Jakob Disease : vCJD) の監視、医原性である硬膜移植後クロイツフェルトヤコブ病の存在などから、研究班内にサーベイランス委員会を組

織し全国の難病担当専門医と協力してサーベイランスを遂行する。さらに実地調査によって患者や家族の抱えている問題点を明確にし、患者や家族に対する医療と心理ケアの両面からの支援を推進する。臨床の側面からは各病型や個々の症例の臨床的問題や特異な点、新しい知見を検証することにより疾患に関する情報をさらに正確で患者や医療者に有用なものとし診療に寄与する。基礎研究では分子生物学的手法、培養細胞を用いた実験系、病理学的検索、モデル動物の作製等の様々な手法を学際的に駆使して発症機序の解明と予防法・治療法の開発に取り組む。さらに臨床における治験データを集積し、改良を加えより効果的で副作用の少ない治療プロトコールを提供することを目的としている。

B. 研究方法

各分担研究者と研究協力者は、研究班の目的を目指し、それぞれの研究計画に従って個別研究を実施するとともに、それぞれの疾患毎に分科会を組織して例えば疫学的研究など研究班全体としてやるべき研究をも強力に推進した。臨床的研究では 3 疾患はともにサーベイランスや専門医に対するアンケート調査を行い、疫学的情報の収集あるいはフォローアップを行った。さらに実地調査や診療を通じて疾患の病状・病態の解明や治療法の開発に努めた。基礎研究でも複数の研究者や研究室が支援し合い協力する体制で研究の遂行に当たった。具体的には以下に記載した方法により各疾患について研究を推進した。なお、このような特殊性と行政からの要請により、本研究班では全国をカバーするサーベイランス担当者を中心として研究協力者を多数有している。

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の方針とした。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、新しい治療薬の有力な候補を検索した。

- 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。水澤、山田が他班の班員、班長を兼ねており、その任にあたった。
- 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ぬ事例、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:SSPE に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。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

全国サーベイランスとして 1999 年 4 月より調査を続けているプリオン病患者数は 2008 年 1 月 31 日までに総数で 1726 件の調査を行い、そのうち 1051 人がプリオン病と認定された。この間調査の迅速性と悉皆性は感染症届け出情報や遺伝子・髄液検査依頼の情報を組み入れることで飛躍的に向上した。その結果、本邦で初めての vCJD を診断し長期経過にて孤発型 CJD と同様の病像や検査所見を呈しうることを明らかにし WHO の診断基準の改訂に貢献した(山田班員ら)。非典型的孤発性 CJD では MM2 型が多いことやその診断法を明らかにし(山田班員ら)、累積 132 例という世界の過半数を占める硬膜移植後 CJD を分析し非典型例の病像を明らかにした(中村班員ら)。V180I、M232R など本邦に特有の遺伝性プリオン病の病像や D178N 変異コドン 129MM 多型の致死性家族性不眠症の家系内臨床症状の多様性も明らかとなった(村山班員ら、志賀研究協力者ら、有馬研究協力者ら)。

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(田村研究協力者ら)。また、医療を介する二次感染リスクのある事例を発見し、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い、個々の事例に対し対応を行った(三條班員ら、山田班員ら)。

3) 臨床的研究

画像小委員会を発足し、MRI 拡散強調像の ASIST-Japan 法による表示条件標準化手法の有用性を評価した(湯浅班員ら)。画像診断

を基にした新たなプリオン病診断基準を提案した(画像小委員会)。診断については、最も重要な MRI 拡散強調像診断の問題点とその解決法を明らかにするとともに、MRI 撮像法の標準化の検討を進め、3 テスラ MRI 機や拡散テンソル画像の有用性を検討した。脳内のプリオン蛋白を直接表示するアミロイドイメージングの研究も進捗した(志賀研究協力者ら)。平成 14 年に作成された「プリオン病感染予防ガイドライン」を大幅に改訂した(黒岩班員ら)。全国の施設から 14-3-3 蛋白やタウ蛋白等の髄液検査を引き受けるとともに画像検査の陽性率との対比研究を行った(調班員ら)。

4) 正常プリオン蛋白の特徴と関連する因子の解析

正常プリオン蛋白の細胞内輸送機構の詳細(金子班員ら)、その N 末領域結合分子、プリオン蛋白類似蛋白(PrPLP/Dpl)の神経毒性を抑制することによる細胞保護作用の機序、アポトーシス抑制機能が N 末 124 アミノ酸領域に存在すること(坂口班員ら)などを明らかにし、構造解析からアミロイド線維形成領域を同定した(桑田班員ら)。

5) プリオン蛋白異常化の機序の研究

酵母プリオン系を用いて感染性や株特異性に関する研究が進み(田中研究協力者ら)、培養細胞レベルではプリオンの感染効率とその機序、プリオン感染およびその治療に伴って異常プリオン蛋白増殖の変動をもたらす遺伝子群が判明した(三好班員ら)。ヒト型ノックインマウスによる研究ではトレースバック実験を含め(小林班員ら)、重合プリオン蛋白形成機序(岩城班員ら)、様々な病型の感染性、コドン 129 の M/V 多型の意義(毛利班員ら)、vCJD と BSE との関係、硬膜移植後 CJD の異常プリオン蛋白の由来を明らかにする(小林班員ら)という画期的成果をあげた。ヒト剖検脳を用いた研究では、神経病理学的にシナプス開口分泌の障害が早期から生じることを明らかにした(岩城班員ら)。霊長類への BSE

伝達実験に成功し発症機序解明やリスク評価等に有用なモデルが作製できた。

6) 早期・高感度の診断法の研究

末梢組織の生検部位としての鋤鼻器官の検討を完了し(古川班員ら)、ニワトリ単クローン抗体を用いて既製品を超える異常プリオン蛋白検出系を完成した。Protein Misfolding Cyclic Amplification(PMAC)法を超えるべく Multimer Detection System(MDS)法や Quaking-induced Conversion(QUIC)法を開発し感染動物の体液中のごく微量の異常プリオン蛋白の検出を可能にした(横山班員ら、新研究協力者ら)。

7) 治療法の研究

キナクリン経口投与ならびにペントサン脳室内持続注入による臨床試験を終了し、僅かながら効果はあるものの副作用もあることなどを明らかにした(調班員ら)。さらに、末梢投与型の新規治療薬候補であるアミロイド親和性化合物の開発を進めた(堂浦班員ら)。

8) 臨床検査、病理診断、剖検に対する支援

プリオン蛋白遺伝子検査、免疫組織検査、western blot 検査(北本研究協力者ら)を、髄液中の 14-3-3 蛋白の測定(調班員ら)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。

9) 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

づき支援を行い、我が国独自の指針の作成にあたり厚生労働省 CJD 二次感染予防対策検討委員会に協力した。

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)

1) 疫学的調査

SSPE 分科会の協議にもとづき、患者家族の会とも提携して実態調査を行い 15 年前の調査結果と比較検討するとともに、最終年度にはより詳細な全国サーベイランス調査を行った。リバビリンの髄腔内投与の臨床試験を進め、これまでホームページで公開してきた診療ガイドラインを改訂しその冊子体を作成して全国の関係者に配布し早期診断と早期治療の周知を推進した。パプアニューギニアやフィリピンとも協力して髄液サイトカインの動態、宿主側の遺伝的疾患感受性、乳児期麻疹罹患と発症リスクなどを明らかにするとともに、トルコとも共同研究を進めている(高須研究協力者ら)。

2) SSPE の治療状況の調査

全国のリバビルン治療の現状を調査し、調査可能であった 116 例に関して、その実施状況、有効性、副作用などの実態を明らかにし、治験としてより多くの症例が参加出来るように工夫した(野村研究協力者ら、飯沼研究協力者ら)。

3) SSPE の発症機序と治療に関する基礎的研究

SSPE における麻疹ウイルス M 蛋白・F 蛋白の変異とその意義を明らかにし(堀田班員ら)、麻疹ウイルス受容体 SLAM のノックインマウスの作製に成功した(柳班員ら)。また、カニクイザルにおいて最長 5 年に及ぶ長期脳内感染モデルの作製にも成功した(網班員ら)。これらの基礎技術を活かして siRNA による治療研究も培養細胞レベルまで達成された。

4) SSPE の革新的治療法の開発

リバビルン脳室内投与療法の効果的な治療プロトコールを作成した(細谷班員ら)。

進行性多巣性白質脳症 (PML)

1) 疫学的調査

PML 分科会の協議に基づき、全国疫学調査結果およびその追跡調査を行い本邦の実態を明らかにするとともに(岸田班員ら)、治療法を含む診療ガイドラインを作成しその改訂も行った(黒田研究協力者ら)。JC ウイルスの検査法を改良し全国からのウイルス検査・病理診断支援や治療相談の依頼に対応できる体制を構築した(倉根班員ら)。

2) 発症機序に関する基礎的な研究

JC ウイルスのアグノ蛋白の機能、その結合蛋白 heterochromatin protein 1 α (HP1 α)、輸送蛋白 importin、転写制御因子 DDX1などを次々に同定、promyelocytic leukemia 核体関連蛋白との関連、PML 特有のウイルスゲノム変異などを明らかにした(澤班員、長島研究協力者ら)。

3) 新たな治療法の開発

siRNA や新規薬剤による治療研究も培養細胞や動物モデルのレベルまでは成功し、PKC 阻害剤の Roscovitine の有用性と安全性について研究を進めている(澤班員ら)。

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 17 年度から 19 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歩が見られた。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歩があった。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。プリオン蛋白の細胞内輸送の詳細を明らかにした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製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いないが、正常多型と異常化の関係なども解明されつつあり、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。

治療の面では前回のキナクリンに関する臨床研究に続き、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、日本における治験登録が終了し、現在経過を観察している。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早期診断・早期治療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 の危険因子や関連する遺伝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、更には新たな治療薬の開発の基礎的な研究が順調に進められていることは満足すべきである。

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 疾患についても基礎研究、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、英国でのペントサンポリサルフェートの脳室内持続注入療法に協力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大変重要である。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17～19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. 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(41) : 30022-30028.
2. Takenouchi T, Iwamaru Y, Imamura M, Kato N, Sugama S, Fujita M, Hashimoto M, Sato M, Okada H, Yokoyama T, Mouhri S, Kitani H. Prion Infection correlates with hypersensitivity of P2X7 nucleotide receptor in a mouse microglial cell lines. *FEBS Lett* 2007 ; 581 : 3039-3026.
3. Murayama Y, Yoshioka M, Okada H, Takata M, Yokoyama T, Mohri S. Urinary Excretion and Blood Level of Prions in Scrapie Infected Hamsters. *J Gen Virol* 2007 ; 88 ; 2890-2898.
4. Murayama Y, Yoshioka M, Yokoyama T, Iwamaru Y, Imamura M, Masujin K, Yoshiba S, Mohri S. Efficient in vitro amplification of a mouse-adapted scrapie prion protein. *Neurosci Lett* 2007 ; 413 : 270-273.
5. Murayama Y, Yoshioka M, Horii H, Takata M, Yokoyama T, Sudo T, Sato K, Shinagawa M, Mohri S. : Protein misfolding cyclic amplification as a rapid test for assessment of prion inactivation. *Biochem Biophys Res Commun* 2006 ; 348(2) : 758-62.
6. Murayama Y, Yoshioka M, Yokoyama T, Iwamaru Y, Imamura M, Masujin K, Yoshiba S, Mohri S. Specific detection of prion antigenic determinants retained in bovine meat and bone meal by flow microbeads immunoassay. *J Appl Microbiol* 2006 ; 101 : 369-376.
7. Asano M, Mohri S, Ironside JW, Ito M, Tamaoki N, Kitamoto T. vCJD prion acquires altered virulence through trans-species infection. *Biochem Biophys Res Commun* 2006 ; 342(1) : 293-299.
8. Kobayashi A, Satoh S, Ironside JW, Mohri S, Kitamoto T. Type 1 and type

- 2 human PrP^{Sc} have different aggregation sizes in methionine homozygotes with sporadic, iatrogenic and variant Creutzfeldt–Jakob disease. *J Gen Virol* 2005 ; 86 : 237–240.
9. Furuya K, Kawahara N, Yamakawa Y, Kishida H, Hachiya NS, Nishijima M, Kirino T, Kaneko K. Intracerebroventricular delivery of dominant negative prion protein in a mouse model of iatrogenic Creutzfeldt–Jakob disease after dura graft transplantation. *Neurosci Lett* 2006 ; 402(3) : 222–226.
 10. 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^C) invokes neuronal apoptosis in aged transgenic mice overexpressing PrP^C. *Neurosci Lett* 2005 ; 374(2) : 98–103.
 11. Hachiya NS, Watanabe K, Kawabata MY, Jozuka A, 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* 2005 ; 327(3) : 894–899.
 12. 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* 2005 ; 347(1) : 106–111.
 13. Kremer W, Kachel N, Kuwata K, Akasaka K, Kalbitzer HR. Species specific differences in the intermediate states of human and hamster prion protein detected by high pressure NMR spectroscopy. *J Biol Chem* 2007 ; 282 : 22689–22698.
 14. Kuwata K, Nishida N, Matsumoto T, Kamatari YO, Hosokawa-Muto J, Kodama K, Nakamura HK, Kimura K, Kawasaki M, Takakura Y, Shirabe S, Takata J, Kataoka Y, Katamine S. Hot spots in prion protein for pathogenic conversion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 11921–11926.
 15. Nakamura HK, Takano M, Kuwata K. Modeling of a propagation mechanism of infectious prion protein ; a hexamer as the minimum infectious unit. *Biochem Biophys Res Commun* 2007 ; 361 : 789–793.
 16. Kamatari YO, Nakamura HK, Kuwata K. Strange kinetic phase in the extremely early folding process of β -lactoglobulin. *FEBS Lett* 2007 ; 581 : 4463–4467.
 17. Kim CK, Sakudo A, Taniuchi Y, Kang CB, Lee DC, Saeki K, Matsumoto Y, Sakaguchi S, Itohara S, Onodera T. Late-onset olfactory deficits and mitral cell loss in mice lacking prion protein with ectopic expression of Doppel. *Intl J Mol Med* 2007 ; 20 : 169–176.
 18. Watanabe Y, Hiraoka W, Shimoyama Y, Horiuchi M, Kuwabara M. Instability of familial spongiform encephalopathy-related prion mutants. *Biochem Biophys Res Commun*, in press.
 19. Fujii F, Horiuchi M, Ueno M, Sakata H,

- Nagao I, Tamura M, Kinjo M. Detection of prion protein immune complex for bovine spongiform encephalopathy diagnosis using fluorescence correlation spectroscopy and fluorescence cross-correlation spectroscopy. *Anal Biochem* 2007 ; 370 : 131-141.
20. Furuoka H, Yabuzoe A, Horiuchi M, Tagawa Y, Yokoyama T, Yamakawa Y, Shinagawa M, Sata T. Species-specificity of a panel of prion protein antibodies for the immunohistochemical study of animal and human prion diseases. *J Comp Pathol* 2007 ; 136 : 9-17.
21. Yamaguchi S, Nishida Y, Sasaki K, Kambara M, Kim C-L, Ishiguro N, Nagatsuka T, Uzawa H, Horiuchi M. Inhibition of PrP^{Sc} formation by synthetic O-sulfated glycopyranosides and their polymers. *Biochem Biophys Res Commun* 2006 : 349 ; 485-491.
22. Kim CK, Sakudo A, Taniuchi Y, Shigematsu K, Kang CB, Saeki K, Matsumoto Y, Sakaguchi S, Itohara S, Onodera T. Late-onset olfactory deficits and mitral cell loss in mice lacking prion protein with ectopic expression of Doppel. *Int J Mol Med* 2007 : 20 ; 169-176.
23. Kim CK, Hirose Y, Sakudo A, Takeyama N, Kang CB, Taniuchi Y, Matsumoto Y, Itohara S, Sakaguchi S, Onodera T. Reduced response of splenocytes after mitogen-stimulation in the prion protein (PrP) gene-deficient mouse : PrPLP/Doppel production and cerebral degeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 2007 : 358 ; 469-474.
24. Dong J, Li A, Yamaguchi N, Sakaguchi S, Harris DA. Doppel induces degeneration of cerebellar Purkinje cells independently of Bax. *Am J Pathol* 2007 : 171 ; 599-607.
25. Nishimura T, Sakudo A, Hashiyama Y, Yachi A, Saeki K, Matsumoto Y, Ogawa M, Sakaguchi S, Itohara S, Onodera T. Serum withdrawal-induced apoptosis in Zrch I prion protein (PrP) gene-deficient neuronal cell line is suppressed by PrP, independent of Doppel. *Microbiol Immunol* 2007 : 51 ; 457-466.
26. Miyazawa K, Kanaya T, Tanaka S, Takakura I, Watanabe K, Ohwada S, Kitazawa H, Rose MT, Sakaguchi S, Katamine S, Yamaguchi T, Aso H. Immunohistochemical characterization of cell types expressing the cellular prion protein in the small intestine of cattle and mice. *Histochem Cell Biol* 2007 : 127 ; 291-301.
27. Ishibashi D, Yamanaka H, Yamaguchi N, Yoshikawa D, Nakamura R, Okimura N, Yamaguchi Y, Shigematsu K, Katamine S, Sakaguchi S. Immunization with recombinant bovine but not mouse prion protein delays the onset of disease in mice inoculated with a mouse-adapted prion. *Vaccine* 2007 : 25 ; 985-992.
28. Yoshikawa D, Kopacek J, Yamaguchi N, Ishibashi D, Yamanaka H, Yamaguchi Y, Katamine S, Sakaguchi S. Newly established in vitro system with fluorescent proteins shows that abnormal expression of downstream

- prion protein-like protein in mice is probably due to functional disconnection between splicing and 3' formation of prion protein pre-mRNA. *Gene*. 2007 ; 386 ; 139-146.
29. Kawatake S, Nishimura Y, Sakaguchi S, Iwaki T, Doh-ura K. Surface plasmon resonance analysis for the screening of ant-prion compounds. *Biol Pharm Bull* 2006 ; 29 ; 927-932.
 30. Yamanaka H, Ishibashi D, Yamaguchi N, Yoshikawa D, Nakamura R, Okimura N, Arakawa T, Tsuji T, Katamine S, Sakaguchi S. Enhanced mucosal immunogenicity of prion protein following fusion with B subunit of Escherichia coli heat-labile enterotoxin. *Vaccine* 2006 ; 24 ; 2815-2823.
 31. Sakurai-Yamashita Y, Sakaguchi S, Yoshikawa D, Okimura N, Masuda Y, Katamine S, Niwa M. Female-specific neuroprotection against transient brain ischemia observed in mice devoid of prion protein is abolished by ectopic expression of prion protein-like protein. *Neuroscience* 2005 ; 136 ; 281-287.
 32. Arima K, Nishida N, Sakaguchi S, Shigematsu K, Atarashi R, Yamaguchi N, Yoshikawa D, Yoon J, Watanabe K, Kobayashi N, Mouillet-Richard S, Lehmann S, Katamine S. Biological and biochemical characteristics of prion strains conserved in persistently-infected cell cultures. *J Virol* 2005 ; 79 ; 7104-7112.
 33. Miyamoto K, Shimamoto T, Aosasa M, Kimura S, Nakamura N, Okubob Y, Yokoyama T, Horiuchi H, Furusawa S, Matsuda H. Development of recombinant chicken IgY from single chain fragment of variable region for diagnosis of BSE. *Biologicals* 2007 ; 35 : 31-34.
 34. Miyamoto K, Kimura S, Nakamura N, Yokoyama T, Horiuchi H, Furusawa S, Matsuda H. Chicken antibody against a restrictive epitope of prion protein distinguishes normal and abnormal prion proteins. *Biologicals*, 2007 ; 35 : 303-308.
 35. Masujin K, Shimada K, Kimura KM, Imamura M, Yoshida A, Iwamaru Y, Mohri S, Yokoyama T. Applicability of current bovine spongiform encephalopathy (BSE) diagnostic procedures for chronic wasting disease (CWD). *Microbiol Immunol* 2007 ; 51 : 1039-1043.
 36. Yokoyama T, Masujin K, Yamakawa Y, Sata T, Murayama Y, Shu Y, Okada H, Mohri S, Shinagawa M. Experimental transmission of two young and one suspended bovine spongiform encephalopathy (BSE) cases to bovinized transgenic mice. *Jpn J Infect Dis* 2007 ; 60 : 317-320.
 37. Masujin K, Matthews D, Wells GA, Mohri S, Yokoyama T. Prions in the peripheral nerves of bovine spongiform encephalopathy-affected cattle. *J Gen Virol* 2007 ; 88 : 1850-1858.
 38. Yokoyama T, Shimada K, Masujin K, Iwamaru Y, Imamura M, Ushiki YK, Kimura KM, Itohara S, Shinagawa M. Both host prion protein 131-188 subregion and prion strain characteristics regulate glycoform of PrP^{Sc}. *Arch Virol* 2007 ; 152 : 603-609.

39. Yokoyama T, Shimada K, Tagawa Y, Ushiki YK, Iwamaru Y, Hayashi HK, Shinagawa M. Western blot assessment of prion inactivation by alkali treatment in the process of horticultural fertilizer production from meat meal. *Soil Sci. Plant. Nutr* 2006 ; 52 : 86-91.
40. Shimada K, Hayashi HK, Ookubo Y, Iwamaru Y, Imamura M, Takata M, Schmerr MJ, Shinagawa M, Yokoyama T. Rapid PrP^{Sc} detection in lymphoid tissue and application to scrapie surveillance of fallen stock in Japan : variable PrP^{Sc} accumulation in palatal tonsil in natural scrapie. *Microbiol Immunol* 2005 ; 49 : 801-804.
41. Hayashi HK, Yokoyama T, Takata M, Iwamaru Y, Imamura M, Ushiki YK, Shinagawa M. The N-terminal cleavage site of PrP^{Sc} from BSE differs from that of PrP^{Sc} from scrapie. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 ; 328 : 1024-1027.
42. Kawasaki Y, Kawagoe K, Chen CJ, Teruya K, Sakasegawa Y, Doh-Ura K. Orally administered amyloidophilic compound is effective in prolonging the incubation periods of animals cerebrally infected with prion diseases in a prion strain-dependent manner. *J Virol* 2007 ; 81(23) : 12889-12898.
43. Ishikawa K, Kudo Y, Nishida N, Suemoto T, Sawada T, Iwaki T, Doh-ura K. Styrylbenzazole derivatives for imaging of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies. *J Neurochem* 2006 ; 99 : 198-205.
44. Satoh K, Shirabe S, Tsujino A, Eguchi H, Motomura M, Honda H, Tomita I, Satoh A, Tsujihata M, Matsuo H, Nakagawa M, Eguchi K. Total Tau Protein in Cerebrospinal Fluid and Diffusin-Weighted MRI as an Early Diagnostic Marker for Creutzfeldt-Jakob Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007 ; 24 : 207-212.
45. Satoh K, Shirabe S, Eguchi H, Tsujino A, Motomura M, Satoh A, Tsujihata M, Eguchi K. Chronological changes in MRI and CSF biochemical markers in Creutzfeldt-Jakob disease patients. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007 ; 23(6) : 372-381.
46. Shiga Y, Satoh K, Kitamoto T, Kanno S, Nakashima I, Sato S, Fujihara K, Takata H, Nobukuni K, Kuroda S, Takano H, Umeda Y, Konno H, Nagasato K, Satoh A, Matsuda Y, Hidaka M, Takahashi H, Sano Y, Kim K, Konishi T, Doh-Ura K, Sato T, Sasaki K, Nakamura Y, Yamada M, Mizusawa H, Itoyama Y. Two different clinical phenotypes of Creutzfeldt-Jakob disease with a M232R substitution. *J Neurol* 2007 ; 254 : 1509-1517.
47. Satoh K, Shirabe S, Eguchi H, Tsujino A, Eguchi K, Satoh A, Tsujihata M, Niwa M, Katamine S, Kurihara S, Matsuo H. 14-3-3 protein, total tau and phosphorylated tau in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease and neurodegenerative disease in Japan. *Cell Mol Neurobiol* 2006 ; 26(1) : 45-52.
48. 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* 2005 ; 31 ; 80-87
49. 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* 2005 ; 64 : 643-648.
 50. Nakamura Y, Watanabe M, Nagoshi K, Yamada M, Mizusawa H. Geographic Difference of Mortality of Creutzfeldt-Jakob Disease in Japan. *J Epidemiol* 2007 ; 17(1) : 19-24.
 51. Ishida C, Okino S, Kitamoto T, Yamada M. Involvement of the peripheral nervous system in human prion diseases including dural graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005 ; 76 : 325-329.
 52. Iwasaki Y, Iijima M, Kimura S, Yoshida M, Hashizume Y, Yamada M, Kitamoto T, Sobue G. Autopsy case of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease presenting with signs suggestive of brainstem and spinal cord involvement. *Neuropathology* 2006 ; 26 : 550-556.
 53. Nozaki I, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Ono K, Shirasaki H, Komai K, Kitamoto T, Yamada M. The MM2-cortical form of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease presenting with visual disturbance. *Neurology* 2006 ; 67 : 531-533.
 54. Yamada M on behalf of the Variant CJD Working Group, CJD Surveillance Committee, Japan. The first Japanese case of variant Creutzfeldt-Jakob disease showing periodic electroencephalogram. *Lancet* 2006 ; 36 : 874.
 55. Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa T, Yamada M. Ophthalmic surgery in prion diseases. *Emerg Infect Dis* 2007 ; 13 : 162-164.
 56. Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Nakamura Y, Mizusawa H, Yamada M. Clinical features and diagnosis of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2007 ; 69 : 360-367.
 57. Ichiyama T, Siba P, Suarkia D, Reeder J, Takasu T, Miki K, Maeba S, Furukawa S. Analysis of serum and cerebrospinal fluid cytokine levels in subacute sclerosing panencephalitis in Papua New Guinea. *Cytokine* 2006 ; 33 : 17-20.
 58. Ichiyama T, Siba P, Suarkia D, Takasu T, Miki K, Kira R, Kusuhara K, Hara T, Toyama J, Furukawa S. Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neurol Sci* 2007 ; 252 : 45-48.
 59. Otaki M, Sada K, Kadoya H, Kato S, Nagano-Fujii M, Hotta H. Inhibition of measles virus and subacute sclerosing panencephalitis virus by RNA interference. *Antiviral Res* 2006 ; 70 : 105-111.
 60. Hotta H, Nihei K, Abe Y, Kato S, Jiang D-P, Nagano-Fujii M, Sada K.

- Full-length sequence analysis of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) virus, a mutant of measles virus, isolated from brain tissues of a patient shortly after onset of SSPE. *Microbiol Immunol.* 2006;50:525-534.
61. Ohgimoto K, Ohgimoto S, Ihara T, Mizuta H, Ishido S, Ayata M, Ogura H, Hotta H. Difference in production of infectious wild-type measles and vaccine viruses in monocyte-derived dendritic cells. *Virus Res* 2007 ; 123 : 1-8.
 62. Otaki M, Jiang D-P, Sasayama M, Nagano-Fujii M, Hotta H. Generation of Recombinant Adenovirus Expressing siRNA against the L mRNA of Measles Virus and Subacute Sclerosing Panencephalitis Virus. *Microbiol Immunol.* Ohno S, Ono N, Seki F, Takeda M, Kura S, Tsuzuki T, Yanagi Y. Measles virus infection of SLAM (CD150) knockin mice reproduces tropism and immunosuppression in human infection. *J Virol.* 2007 : 81(4) ; 1650-1659.
 63. Takeuchi K, Takeda M, Miyajima N, Ami Y, Nagata N, Suzaki Y, Shahnewaz J, Kadota S, Nagata K. Stringent requirement for the C protein of wild-type measles virus for growth both in vitro and in macaques. *J Virol* 2005 ; 79 : 7838-7844.
 64. Hashiguchi T, Kajikawa M, Maita N, Takeda M, Kuroki K, Sasaki K, Kohda D, Yanagi Y, Maenaka K. Crystal structure of measles virus hemagglutinin provides insight into effective vaccines. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, in press.
 65. Suzuki T, Okada Y, Semba S, Orba Y, Yamanouchi S, Endo S, Tanaka S, Fujita T, Kuroda S, Nagashima K, Sawa H. Identification of FEZ1 as a protein that interacts with JC virus agnoprotein and microtubules : role of agnoprotein-induced dissociation of FEZ1 from microtubules in viral propagation. *J Biol Chem* 2005 ; 280 : 24948-24956.
 66. Sunden Y, Suzuki T, Orba Y, Umemura T, Asamoto M, Nagashima K, Tanaka S, Sawa H. Characterization and application of polyclonal antibodies that specifically recognize JC virus large T antigen. *Acta Neuropathol* 2006 ; 111 : 379-387.
 67. Orba Y, Sunden Y, Suzuki T, Nagashima K, Kimura T, Tanaka S, Sawa H. Pharmacological cdk inhibitor R-Roscovitine suppresses JC virus proliferation. *Virology* (in press) Zheng HY, Ikegaya H, Takasaka T, Matsushima-Ohno T, Sakurai M, Kanazawa I, Kishida S, Nagashima K, Kitamura T, Yogo Y. Characterization of the VP1 loop mutations widespread among JC polyomavirus isolates associated with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 Aug 5 ; 333(3) : 996-1002.
 68. Shiga Y, Wakabayashi H, Miyazawa K, et al. 14-3-3 protein levels and isoform patterns in the cerebrospinal fluid of Creutzfeldt-Jakob disease patients in the progressive and terminal stages, *J Clin Neurosci* 2006 ; 13 : 661-665.
 69. Shiga Y. Imaging. In ; Monaco S ed. *Handbook of human prion diseases.*