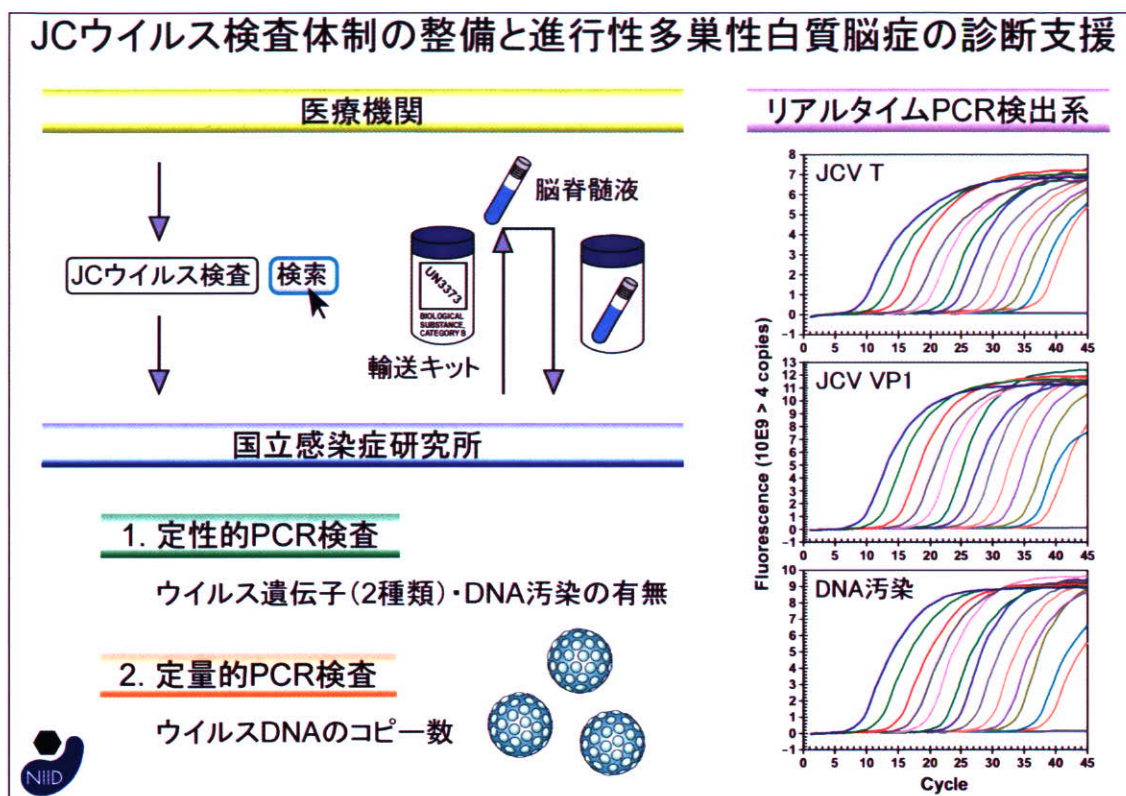


## 進行性多巣性白質脳症 (PML) の診断・治療を目的とした JC ウイルスの定量的検出系の確立および検査体制の整備

分担研究者：倉根一郎 国立感染症研究所ウイルス第一部

研究協力者：中道一生 国立感染症研究所ウイルス第一部



進行性多巣性白質脳症(PML)は、JCウイルス(JCV)が脳内にて増殖することで引き起こされる致死的な脱髄疾患である。PMLの診断では髄液を用いたゲノムDNAのPCR検査が優先される。我々はJCVのDNAを迅速かつ定量的に検出するためのTaqManリアルタイムPCR検査系を確立した。また、インターネットによる直接依頼や国連規格容器による検体のシャトル輸送、検査室全体を紫外線照射するための装置等、利便性と安全性、信頼性を考慮した検査体制を整備した。定性的検査では、3種類のPCRプログラムを同一プラットフォームにて起動し、JCV遺伝子配列(2種類)の有無および陽性DNAの汚染を調べる。定性的検査にて陽性を示した髄液については定量的検査を行い、髄液中のウイルスゲノム量を測定する。本検査系を基盤として、PMLの診断や治療におけるJCV検査の支援および国内のPML発生状況のサーベイランスを実施している。

1：M232R 変異を有する家族性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床像  
2：プリオン病に対するアミロイド PET による PrP<sup>Sc</sup> 検出の試み

研究協力者：志賀裕正 仙台富沢病院内科

1. 研究目的

1：M232R 変異を有する家族性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床像

これまで M232R を有する家族性 Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD232) の臨床像は古典型孤発性 CJD と同じと考えられてきたが、サーベイランス調査の積み重ねにより、進行が緩徐で、ミオクローヌスや脳波での PSD が末期まで出現しない緩徐進行例が存在することが知られてきた。自験例やサーベイランス調査で判明した症例を集積し、緩徐進行例の頻度、診断に有用な検査所見を検討した。

2：プリオン病に対するアミロイド PET による PrP<sup>Sc</sup> 検出の試み

プリオン病生前確定診断法開発のため、アミロイド構造を有する異常型プリオン蛋白の脳内蓄積を PET 検査により検出可能かどうか検証する。

2. 研究方法

1：M232R 変異を有する家族性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床像

十分な臨床情報、プリオン蛋白遺伝子 (PRNP) 情報を得られる CJD232 20 症例を対象に発症年齢、臨床症状、髄液所見、脳波での PSD の有無、画像検査所見を検討した。

2：プリオン病に対するアミロイド PET による PrP<sup>Sc</sup> 検出の試み

東北大にて開発された PET で利用可能な、アミロイドと特異的に結合するプローブ [11C]BF-227 を用いて 4 名のプリオン病患者 (孤発性 Creutzfeldt-Jakob : CJD2 名、2 名と

もほぼ無動無言状態 ; Gerstmann-Sträussler-Scheinker 病 : GSS2 名、2 名とも自力歩行可能であるが、1 例が軽度の認知機能障害を認め、もう 1 例は認知機能障害を認めない) に PET 検査を行い、[11C]BF-227 取り込み状況を検討した。

(倫理面の配慮)

CJD232 の検討は主にサーベイランス対象になった症例を対象として行った。サーベイランス調査は金沢大学医学部倫理委員会で承認されており、アミロイド PET 検査は東北大学医学部倫理委員会の承認を得て行った。両研究とも患者さん個人が特定できないように配慮した。

3. 研究結果及び考察

1：M232R 変異を有する家族性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床像

対象症例 20 名中 15 名が発症後 6 ヶ月以内に無動無言状態に陥る急速進行型で、古典型孤発性 CJD と酷似した。5 例が発症後 15 ヶ月までは無動無言状態に陥らない緩徐進行型で、ミオクローヌスは末期に非典型的なものを呈し、PSD も 1 例を除いて出現しなかった。PRNP タイプには両型で変化なかった。両型とも全例家族歴を有しなかった。急速進行型は PRNP 検査なしには古典型孤発性 CJD との鑑別は困難である。緩徐進行型は臨床書状だけでは診断困難であるが、全例拡散強調 MRI で大脳皮質、視床内側に高信号を認めた。拡散強調 MRI と PRNP 検索が診断に有用である。近年 M232R 変異を有するものの CJD

を発症していない保因者が存在することが報告されているが、CJD232には古典型 CJD とは異なる緩徐進行型存することを認識したうえで診療にあたる必要がある。

#### 2: プリオン病に対するアミロイド PET による PrP<sup>Sc</sup> 検出の試み

孤発性 CJD では 1 例は大脳皮質、視床、小脳で正常対象者と比較して[11C]BF-227 の取り込みが亢進していた。もう 1 例では小脳での取り込み亢進は認めず大脳皮質、視床で取り込み亢進を認めた。CJD の進行度はほぼ一致していた。GSS 症例では正常対象者と比較して 1 例で大脳皮質、小脳で取り込み亢進を認め、1 例で大脳皮質、視床で取り込み亢進を認めた。

検査症例数が少なく、結論を出すまでにはいたらないが、プリオン病患者での[11C]BF-227 の取り込み亢進は PrP<sup>Sc</sup> 沈着を検出している可能性がある。

#### 4. 評価

##### 1) 達成度について

CJD232 の臨床像に関しては、これまで認知されていなかった緩徐進行型が存在することを明らかにすることができた。アミロイド PET に関しては、被験者数が少なく結論を出すまでには至らなかった。

##### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

CJD232 はこれまで日本からのみ報告されている家族性 CJD である。この臨床像を明らかにすることは日本でしかできないことである。アミロイド PET と拡散強調 MRI を組み合わせることにより、より制度の高い生前診断が可能となると思われ、非常に価値のある研究と思われる。

##### 3) 今後の展望

CJD232 に関しては、病理所見の蓄積が必

要とである。

アミロイド PET に関しては検査症例数を増やすことが重要。孤発性 CJD は症状の進行が速く、PET 検査の日時が限られており、日程の調整をどうするかが今後の課題である。GSS 症例に関しても検査に協力していただける対象症例を見出すことがこんごの課題である。

##### 4) 研究内容の効率性について

プリオン病は疾患そのものが少なく、対象患者を見出すことから始まる。種々の制約もあり臨床研究の効率性という点では症例数の蓄積に時間がかかることもやむを得ない。

#### 5. 結論

CJD232 には古典型 CJD とは異なる緩徐進行型存する。アミロイド PET に関しては更なる症例の蓄積が必要である。

#### 6. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表：6 件

原著論文による発表：0 件

それ以外(レビュー等)の発表：5 件

そのうち主なもの

##### 論文発表

1. 志賀裕正. プリオン病の診断基準・病型分類・重症度. 内科, 2005 : 95 ; 1521-1523.
2. 志賀裕正. プリオン病の MRI 画像診断, 神経内科. 2005 : 63 ; 435-440.
3. 志賀裕正. その他の医原性 Creutzfeldt-Jakob 病. Clin Neurosci. 2006 ; 24 : 295-297.
4. 志賀裕正. 遺伝性 Prion 病—概説と本邦の特徴. Brain Medical, 2006, 18, 347-351.
5. 志賀裕正. 臨床的特徴と検査所見. 日本臨床, 2007 ; 65 : 1407-1415.

##### 学会発表

1. 志賀裕正, 佐藤 滋, 及川崇紀, 他.

Creutzfeldt-Jakob 病早期診断への拡散強調MRIの有用性. 2005年プリオン研究会, 天童, 2005.8.26-27.

2. 志賀裕正, 佐藤 滋, 及川崇紀, 他. Creutzfeldt-Jakob 病早期診断への拡散強調MRIの有用性. 第46回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005.5.25-27.
3. 志賀裕正, 大沼 歩, 佐藤 滋, 他. Creutzfeldt-Jakob 病疑い例の検討. 第47回日本神経学会総会. 東京, 2006.5.11-13.
4. 志賀裕正, 佐藤 滋, 遠藤 実, 他. 宮城県内発症の Creutzfeldt-Jakob 病に関する疫学調査. 第48回日本神経学会総会. 名古屋, 2007.5.16-18.
5. 志賀裕正, 北本哲之, 森若文雄, 他. 日本の遺伝性プリオン病-欧州症例との相違. 2007年プリオン研究会, 津南(新潟), 2007.8.25-26.
6. 志賀裕正. 日本のプリオン病の現状-サーベイランス調査から. 第17回東北老年期痴呆研究会, 仙台, 2007.11.10.

## 2) 海外

口頭発表: 7件

原著論文による発表: 2件

それ以外(レビュー等)の発表: 1件

そのうち主なもの

### 論文発表

1. Shiga Y, Wakabayashi H, Miyazawa K, Kido H, Itoyama Y. 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.
2. 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.

3. Shiga Y. Imaging. In : Handbook of human prion diseases. Monaco S, Zanusso G, Gambetti P ed. in press.

### 学会発表

1. Kanno S, Shiga Y, Sato S, et al. Familial Creutzfeldt-Jakob disease with a point mutation of methionine to arginine at codon 232 of prion protein gene : two different phenotypes. The 57<sup>th</sup> annual meeting of the American Academy of Neurology. Miami Beach, 2005.
2. Shiga Y, Sato S, Oikawa T, et al. Creutzfeldt-Jakob disease diagnosis using diffusion-weighted MRI findings. The 57<sup>th</sup> annual meeting of the American Academy of Neurology. Miami Beach, 2005.
3. Shiga Y, Kitamoto T, Yamada M, et al. Japanese genetic transmissible spongiform encephalopathy: comparison with European subtypes. The 59<sup>th</sup> annual meeting of the American Academy of Neurology. Boston, Apr 28 - May 5, 2007.
4. Shiga Y. Spongiform changes cause high intensity lesions in diffusion-weighted MRI. PRION 2007. Edinburgh, Sep 26-28, 2007.

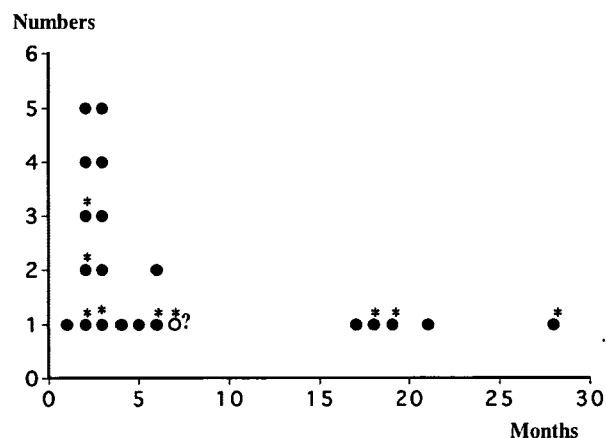
### その他の発表(講演)

1. Shiga Y. Prion disease in Japan :

- Surveillance system and familial CJD native to Japan. at UCSF Aging and Memory Center, San Francisco, Aug 11, 2006.
2. Shiga Y. Characteristics of Japanese prion disease. at Department of Neurology, University of Göttingen, Göttingen, Mar 1, 2007.
7. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)
    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

## M232R 変異を有する家族性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床像

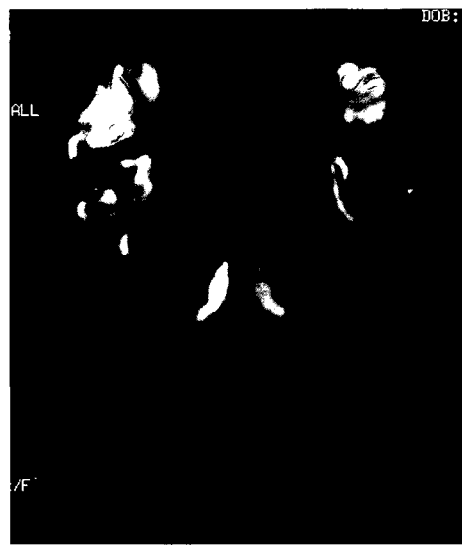
研究協力者：志賀裕正 仙台富沢病院内科



発症から無動無言にいたるまでの期間



急速進行型の拡散強調 MRI



緩徐進行型の拡散強調 MRI

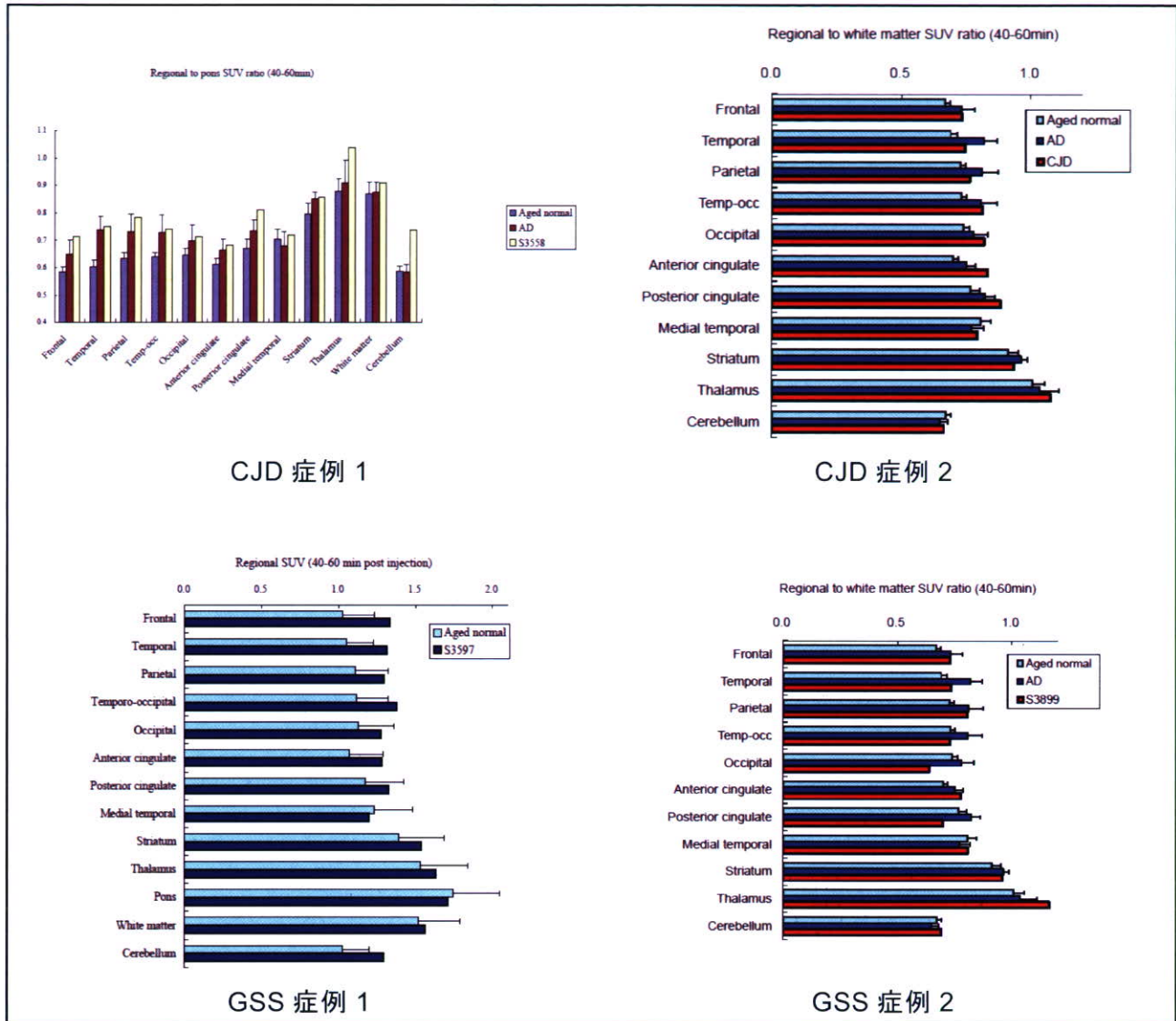
M232R 変異を有する家族性 Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) には発症後 6 ヶ月以内に無動無言状態に陥る急速進行型と発症後 15 ヶ月を経過しても無動無言状態に陥らない緩徐進行型が存在する。急速進行型は古典型孤発性 CJD に酷似しているが、緩徐進行型はミオクローヌスは末期に出現するのみで、脳波での PSD も一般には出現せず、孤発性 CJD と臨床症状は異なっている。両型とも拡散強調 MRI で高信号を認め、特に緩徐進行型では視床内側部の高信号(矢印)が特徴的である。



## プリオン病に対するアミロイド PET による PrP<sup>Sc</sup> 検出の試み

研究協力者：志賀裕正 仙台富沢病院内科

### [11C]BF-227 を用いたアミロイド PET の結果



プリオン病患者の脳内に蓄積する PrP<sup>Sc</sup>がアミロイド構造を持つことから、アミロイドと特異的に結合する PET プローブ[11C]BF-227 を用いて PET 検査を行い、プリオン病患者脳内に蓄積する PrP<sup>Sc</sup> 検出を試みた。対象は孤発性 CJD、GSS 各 2 例。

孤発性 CJD では症例 1 は大脳皮質、視床、小脳で正常対象者と比較して[11C]BF-227 の取り込みが亢進していた。症例 2 では小脳での取り込み亢進は認めず大脳皮質、視床で取り込み亢進を認めた。CJD の進行度はほぼ一致していた。GSS 症例では正常対象者と比較して症例 1 で大脳皮質、小脳で取り込み亢進を認め、症例 2 で大脳皮質、視床で取り込み亢進を認めた。まだ被験症例数が少なく、結論をだすまでには至っていないが、プリオン病患者での[11C]BF-227 の取り込み亢進は PrP<sup>Sc</sup>沈着を検出している可能性がある。

分担研究者：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

## 1. 研究目的

クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)の臨床的側面からのアプローチを行った。具体的には 1) 視覚障害の電気生理学的検討、2) 脳病変における拡散テンソル画像(DTI)を明らかにし、3) 感染予防のガイドラインを作成することを目的とした。

## 2. 研究方法

- 1) 視覚障害の電気生理学的検討: 視覚障害の機構の解明には視覚誘発電位検査(VEP)を用いた。対象はほぼ確定の診断基準を満たすsCJD3例(男性2名、女性1名)。経過3ヶ月～6ヶ月で臥床状態に至っている進行期の患者に対し、flash VEP(刺激頻度1Hz)を施行し、臨床症状・画像と比較検討した。
- 2) 脳病変における拡散テンソル画像(DTI): 拡散テンソル画像(DTI)による錐体路の検討では2004年3月から2005年12月までに横浜市立大学附属病院神経内科に入院し、検査に対して同意の得られたsCJD4例についてDTIを撮像した。(SIEMENS社, Magnetom Symphony Maestro Class)東大医学部附属病院放射線科画像情報処理・解析研究室において開発されたMR拡散テンソル解析ソフトウェア「dTV」によるデータ解析をおこなった。「dTV」は、次のURLから入手可能である(<http://www.ut-radiology.umin.jp/people/masutani/dTV.htm>)。
- 3) 感染予防のガイドラインの作成: 現在ある感染予防ガイドラインをもとにこれを改良し、各分野からの多角的な検討を行い、これまでの知見をもとに実用的な「新しい

プリオン病感染予防ガイドライン」を作成する。

(倫理面の配慮)

これらの研究における症例の情報はプライバシーの保護、不利益に配慮されている。

## 3. 研究結果及び考察

- 1) 視覚障害の電気生理学的検討: 3例いずれも波形の描出や再現性は良好で左右刺激による波形の違いを認め、1例で潜時の軽度延長、2例にGiant VEPを認めた。flash VEPで認めたGiant VEPは臨床所見やMRI所見よりも脳萎縮に相関している傾向にあった。これは以前から報告されているGiant SEPと同様の機序が推測され、大脳皮質の興奮性を反映しているものと考えられた。左右刺激による波形の違いは網膜や視神経の病変を反映しているものと考えられた。
- 2) 脳病変における拡散テンソル画像(DTI): Fiber Trackingでは、脳梁や錐体路の3次元的な神経線維の走行を描出できるが、定量性がなく評価が困難だった。全例で、脳の各ボクセルでのFA値は低下していた。脳萎縮が進行した症例3では、脳梁膨大部・視放線でfractional anisotropy (FA)値がより低下する傾向が見られた。経過中、視覚障害を認めた症例1、3では視放線のFA値低下を認めた。FA値低下は、神経細胞死に伴う白質の神経線維の変性を示唆する所見と考えられる。CJD症例でも、DTIは白質病変の評価に有効だが、灰白質の評価は困難である。
- 3) 感染予防のガイドラインの作成: 通常の身体診察、看護ケア、日常生活上の接触では



孤発型クロイツフェルト・ヤコブ病 (sCJD) も vCJD も感染リスクはほとんどゼロであり、患者を隔離する必要性はない。ただし、高感染性組織(脳・脊髄・視神経・網膜)に曝露される処置の際には二次感染予防対策を十分にすべきで、医源性プリオン病予防の観点から臨床手技を分類している。特記すべきは、輸血を介する感染についてで、sCJD では二次感染のリスクは低い、vCJD では輸血によって二次感染と考えられる CJD 患者が 4 名報告されており高リスク手技と考えられるため、両者を区別して扱うべきである。また手術器具を介した感染においては sCJD、vCJD とも、脳神経外科手術だけでなく、眼科領域では網膜・視神経に接する手術、整形外科領域では硬膜を切開・穿刺する脊髄手術などは高リスク手技として扱うものとする。vCJD については頭蓋外でもリンパ組織を扱う手技は中リスクとされる。

#### 4. 評価

##### 1) 達成度について

当初の目標である CJD を臨床学的な多角側面で検討できたことはある程度評価できている。ただし、評価する母数全体がまだ少ないため、それらの結果を確定するにはまだ時間がかかると思われる。

##### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

CJD の臨床的多角的な面からのアプローチは簡便で CJD の病変の特徴をとらえる一つの目安になるという意味では大変意義のある結果であったと考える。特に臨床的な現場で感染予防のガイドラインが重要な役割を果たすことが予想できる。

##### 3) 今後の展望

今後はさらに症例を増やして今回の結果を

より確実なものにしていくとともに多方面からの臨床的なアプローチも加えていくことを考えている。

##### 4) 研究内容の効率性について

研究内容は臨床的にみて簡便であり、臨床の現場でより効率的に反映できるものとする。

#### 5. 結論

1) 視覚障害の電気生理学的検討：CJD における VEP の特徴は Giant VEP と左右眼刺激による波形の違いにあり、前者では脳萎縮と皮質の興奮性、後者では網膜や視神経の異常が関連している可能性がある。

2) 脳病変における拡散テンソル画像 (DTI) : sCJD4 例で拡散テンソル画像 (DTI) を施行し、Fiber Tracking では、脳梁や錐体路の 3 次元的な神経線維の走行を描出できるが、定量性がなく評価が困難だった。また、発症 3~5 ヶ月の sCJD 症例について、DWI で異常のない白質(脳梁膨大部や内包後脚)に、DTI では FA 値の低下を認め、これは、神経細胞死に伴う白質の神経線維の変性を示唆する所見と考えられる。

3) 感染予防のガイドラインの作成:本ガイドラインが多くの病院・施設で実践され、日常の診療・研究において二次感染予防に貢献できれば幸いである。

#### 6. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表：1 件

原著論文による発表：3 件

それ以外(レビュー等)の発表：0 件

そのうち主なもの

##### 論文発表

1. 岸田日帯, 黒岩義之. プリオン病の感染予防. 日本臨床. 2007 : 65 ; 1454-1458.

2. 岸田日帯, 黒岩義之. 英国と世界の CJD

の実態, Clin Neurosci 2006 : 24 ; 274-278.

3. 岸田日帯, 黒岩義之. 周期性脳波異常, 臨床神経生理学的検査マニュアル, 神経内科特別増刊号 2006 ; 65 Suppl : 93-97.

#### 学会発表

1. 戸田宏幸, 児矢野繁, 鈴木ゆめ, 黒岩義之. Creutzfeldt-Jakob 病に関する視覚誘発電位の検討. 第 47 回日本神経学会総会. 東京, 2006.5.

## 2) 海外

口頭発表 : 2 件

原著論文による発表 : 4 件

それ以外(レビュー等)の発表 : 0 件

そのうち主なもの

#### 論文発表

1. 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 : 222-226.
2. Kawauchi Y, Kamitani T, Yagishita S, Kitamoto T, Kishida H. Autopsy case of Creutzfeldt-Jakob disease with Met/Val heterozygosity at codon 129 and type 1 protease-resistant prion protein presenting some florid-type plaques and many Kuru plaques in the cerebellum. Neuropathology 2006 Aug ; 26(4) : 313-317.
3. 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 2006 ; 13 : 1-5.

4. 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 2005 ; 379 : 149-151.

#### 学会発表

1. Kishida H, Kimura K, Nishiyama T, Koyano S, Toda H, Kuroiwa Y. Evaluation of brain damage of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease by magnetic resonance diffusion tensor imaging. 17<sup>th</sup> Meeting of the European Neurological Society, Rhodos, , 2007.6.
2. Koyano S, Toda H, Kuroiwa Y. Visual evoked potentials in Creutzfeldt-Jakob disease. The 14th Biennial Congress of International Pharmaco-EEG Society Training Course/Symposium Abstracts, 17, Kobe, 2006.9.

## 7. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

1. 特許取得

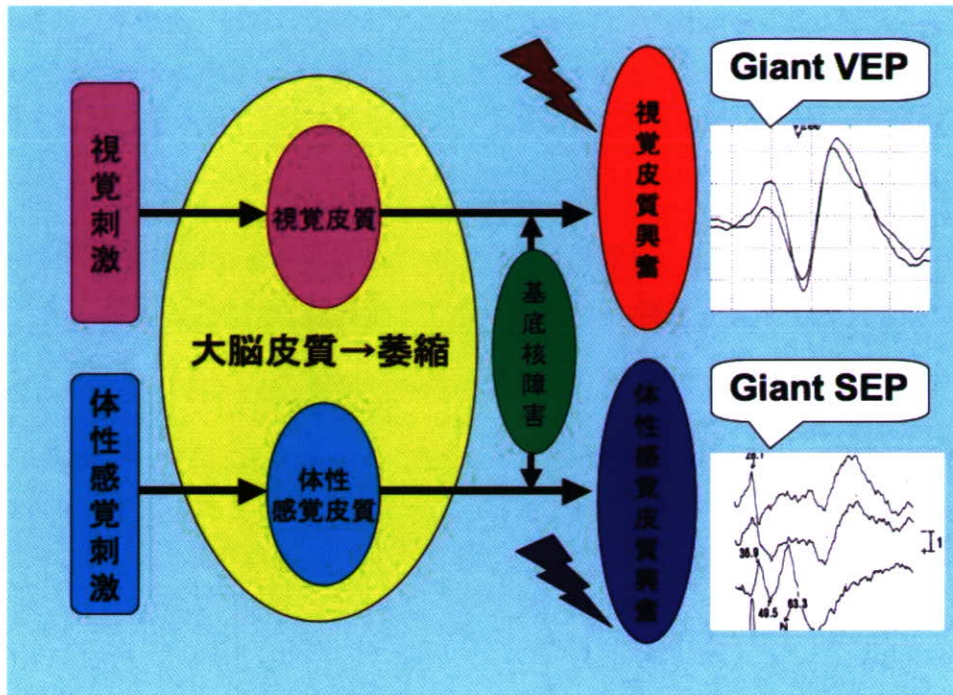
特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし



CJDのVEPは Giant SEPの同様の機序と考えられるGiant VEPが存在し、このGiant VEPは脳萎縮と皮質の興奮性、基底核の抑制が関連している可能性がある。

分担研究者：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

## 1. 研究目的

末梢組織生検によるプリオン病生前確定診断のための非侵襲的検査方法開発を目的とした。

## 2. 研究方法

含神経組織であり、体外からの採取を比較的低侵襲性に行い、鋤鼻器官に着目した。ハムスタースクレイピー系とウシ BSE 系を用い、Western blot 法、免疫組織病理学的方法および感染実験にて鋤鼻器官における異常プリオンの蓄積を検討した。ハムスターについては感染早期における骨格筋での異常プリオン蓄積も同様に検討した。

(倫理面の配慮)

動物実験は長崎大学動物実験委員会の指針の範囲内で行われた。

## 3. 研究結果及び考察

- 1) ハムスター実験系：①正常型 PrP(PrP<sup>C</sup>) 発現：非感染ハムスターの鋤鼻器官には脾臓よりも高いレベルの PrP<sup>C</sup> 発現を認めた。②感染実験(添付シェーマ表参照)：263K スクレイピー腹腔内投与後(通常約 14 週後に発症する)12 週目にすでにプロテアーゼ抵抗性 PrP(PrP<sup>Res</sup>) が鋤鼻器官に蓄積していることが Western blot 法で確認された。しかしながらこれ以前の鋤鼻器官には PrP<sup>Res</sup> の蓄積は認められなかった。また感染早期個体(腹腔内投与から 6 週・8 週)の鋤鼻器官乳剤をハムスター脳内に投与したところ、いずれも発症せず約 2 年間の観察の後に組織病理学的に確認したが異常プリオンの蓄積はみられなかった(感染後期 10 週以降では感染性あり)。③

骨格筋の感染性(添付シェーマ表参照)：腹腔内投与後 4 週目からヒラメ筋・大腿(後面)筋に感染性がみられた(骨格筋乳剤を脳内接種したハムスターの 50~100%が潜伏期間 181~465 日で発症)。

- 2) ウシ実験系：①PrP<sup>C</sup> 発現：食肉処理前に BSE-free であることが確認された非感染牛の鋤鼻器官には小脳の約 1/6 の高いレベルで PrP<sup>C</sup> が発現していた。②感染個体での検討：BSE 脳乳剤を脳内投与後(6 か月後未発症、16 か月・19 か月・23 か月・26 か月発症個体)剖検時に鋤鼻器官を採取し通常の Western blot 法とリンタンゲステン酸沈澱法併用の Western blot 法で検出を試みたが、いずれも陰性であった。免疫染色にても異常プリオン蓄積は証明できなかった。

## 4. 評価

- 1) 達成度について  
予定していた実験はすべて行ったが早期診断方法の確立という目的は達成できなかった。
- 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について  
Zanusso らが発表したヒト嗅粘膜の結果と異なり、鋤鼻器官には異常プリオンの蓄積はみられず、早期診断方法としての有用性は否定的であった。
- 3) 今後の展望  
同時に行ったハムスター骨格筋の感染実験の結果からは、筋生検を応用した診断の可能性も示唆される。

#### 4) 研究内容の効率性について

長期間を要する感染実験を主体としていたため非常に効率的とは言えなかったが、幸いウシ BSE については動物衛生研究所のご協力をいただき予定どおりに研究を遂行することができた。

#### 5. 結論

鼻腔の前寄りに存在する鋤鼻器官を採取し、生検によるプリオン病 (BSE) 診断の可能性を検討した。ハムスタースクレイピー系においては鋤鼻器官に比較的早期から PrP<sup>res</sup> が検出できたが、ウシ BSE では検出できず診断方法としての有用性はないと考えた。一方 (ハムスターの系ではあるが) 骨格筋生検の有用性は示唆された。

#### 6. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表：1 件

原著論文による発表：0 件

それ以外 (レビュー等) の発表：1 件

そのうち主なもの

#### 論文 (レビュー) 発表

1. 古川ひさ子、片峰 茂. プリオン病診断法の進歩. 日本医事新報 2007; 4333: 63-66.

#### 学会発表

1. 古川ひさ子、横山 隆、岡田洋之、片峰 茂. 鋤鼻 (じよび) 器官生検を用いたプリオン病生前診断の試み. 第 46 回日本神経学会総会. 鹿児島, 2005.5.26.

#### 2) 海外

口頭発表：0 件

原著論文による発表：0 件

それ以外 (レビュー等) の発表：0 件

#### 7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

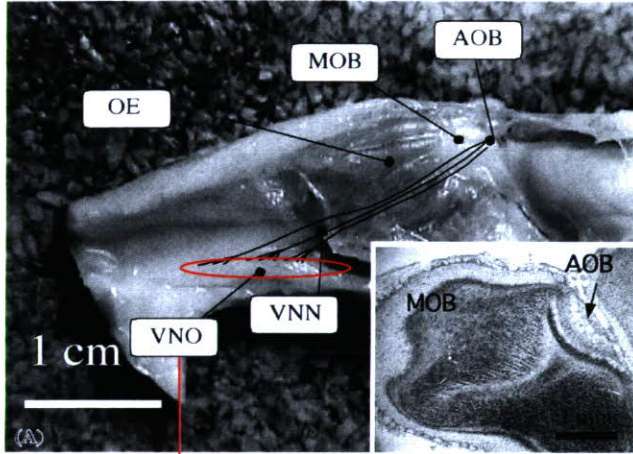
特になし

3. その他

特になし

鋤鼻器官 (VNO)

写真 (Ichikawa M. Zoological Science 2003 より引用) はラット頭部矢状断をしめす。嗅粘膜 (OE) よりも前方に位置する鋤鼻器官 (VNO) に着目し、異常プリオン沈着の有無を検討した。



1) PrPC 発現レベルの確認

ハムスター → (+) 脳よりは低いレベルだが脾臓よりも高い  
ウシ → (+) 小脳の 1/6 程度の発現

2) PrPres の検出 (Western blot)

ハムスター → (+) 腹腔内投与後 12 週目～(14 週で発症する 263K 株による)  
ウシ → (-) 実験感染 BSE (発症・未発症とも) と field case いずれも検出されず

3) 鋤鼻器官の感染性

ハムスター → 263K 腹腔内投与後 4～terminal の鋤鼻器官乳剤をハムスター脳内に投与

感染材料の採取時期 (i.p.後)	感 染 材 料		
	VNO	脳	ヒラメ筋
4W	>581 (0/8)	403 (2/4)	298 (4/4)
6W	>581 (0/8)	>546 (0/4)	
8W	>581 (0/8)	97.0 (4/4)	
10W	112.7 (3/4)	81.8 (4/4)	119.8 (4/4)
12W	129.0 (3/4)	80.5 (4/4)	99.3 (4/4)
14W	107.0 (4/4)	84.3 (4/4)	107.0 (3/4)
Terminal	98.0 (4/4)	64.0 (4/4)	106.0 (4/4)

表の数字は潜伏期間(日)を、カッコ内は 発症数 / 接種総個体数を示す

骨格筋

ハムスター骨格筋の感染性

感染材料はいずれも腹腔内投与 4 週目に採取した骨格筋・神経

	発症数/接種個体総数	潜伏期間(観察期間)
肩甲周囲筋	0/4	(600dpi)
肋間筋	0/4	(600dpi)
大腿(後面)筋	2/4	193,200dpi (630dpi)
ヒラメ筋	4/4	181,226,320,465dpi
坐骨神経	0/4	(600dpi)

協力研究者：佐多徹太郎 国立感染症研究所・感染病理部

## 1. 研究目的

現在国内での CJD 診断の補助検査である髄液中 14-3-3 濃度測定を行う機関は数箇所存在する。しかしながら、施設間での使用抗体やコントロール等に差異があり、カットオフ値の基準値が明確ではない。本研究では、国内での検査の統一基準を定めることを目的とする。

## 2. 研究方法

カットオフ値を求めるためのコントロールとして 293T 細胞発現 His タグ融合 14-3-3 タンパク質を作製した。これまで感染研では 14-3-3 $\gamma$ アイソフォームを指標として髄液検査を行ってきた。本研究ではこれに加え 14-3-3 $\beta$ アイソフォームの His タグ融合タンパク質を作製した。

## 3. 研究結果及び考察

His タグ融合蛋白質は、従来検出に用いている抗体との反応性は同等で、段階希釈においても直線性は良好であった。また、ヒト由来 293T 細胞を用いて発現させているため、抗体間での反応性の違いを補正することも可能であると考えられ、施設間での検査結果の安定性向上に寄与するものと考ええる。

## 4. 評価

### 1) 達成度について

各検査機関に配布できる量の抗原を作製・精製した。

抗体との反応性に関して問題はなかった。今後、臨床的に CJD 確定症例及び陰性検体を用いて本邦でのカットオフ値を求める。

### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

国内では CJD 症例での髄液中 14-3-3 濃度基準はない。

### 3) 今後の展望

同一スタンダードの作製、配布により国内基準作りが加速するものと思われる。また検査標的も $\gamma$ 及び $\beta$ アイソフォームを用いることで、精度向上が見込まれ CJD 鑑別診断に寄与するものと考ええる。

### 4) 研究内容の効率性について

本研究は、国内での髄液中 14-3-3 濃度測定基準を作成する根幹部位である。今後患者検体を用いて実測値よりのカットオフ値算出を始める。

## 5. 結論

国内での CJD 患者髄液中 14-3-3 濃度測定用スタンダードを作製した。抗体との反応性は良好であり、今後、臨床検体の実測を開始する。

## 6. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表：0 件

原著論文による発表：0 件

それ以外(レビュー等)の発表：0 件

### 2) 海外

口頭発表：なし

原著論文による発表：4 件

それ以外(レビュー等)の発表：なし

そのうち主なもの

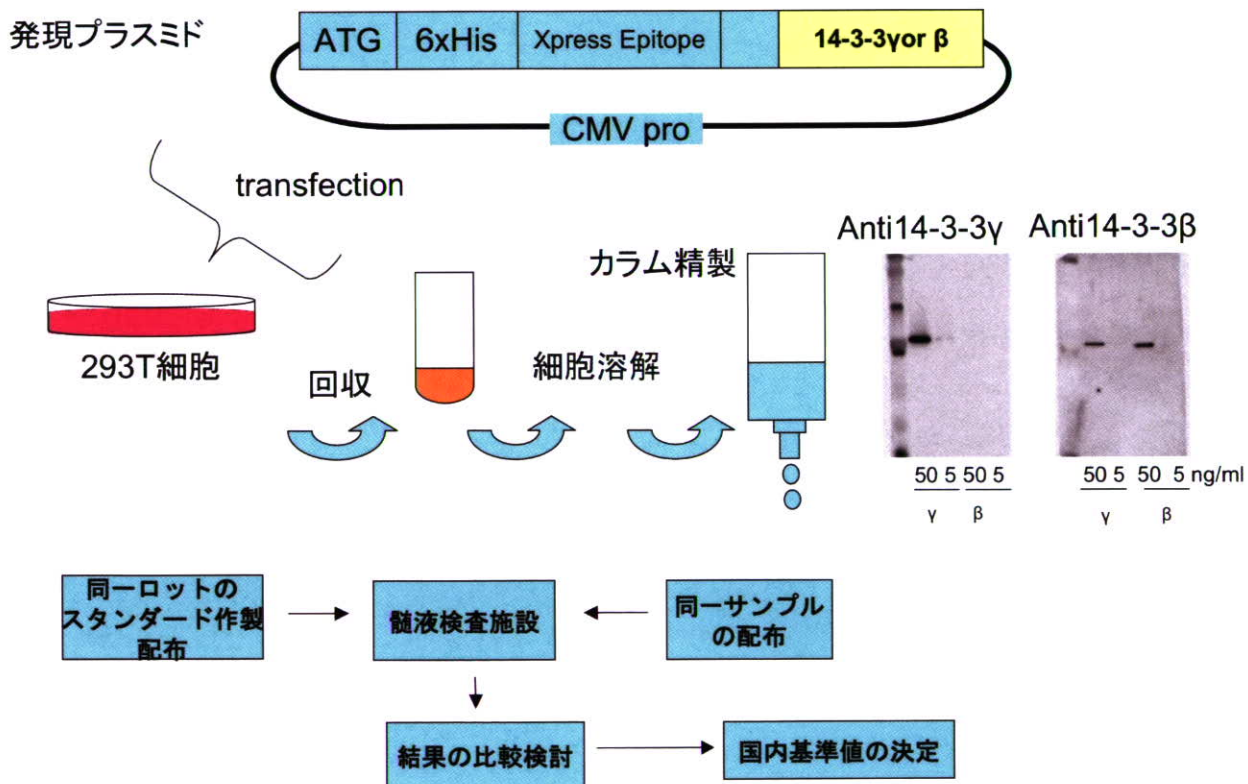


1. Hagiwara K, Yamakawa Y, Sato Y, Nakamura Y, Tobiume M, Shinagawa M, Sata T. Accumulation of mono-glycosylated form-rich, plaque-forming PrPSc in the second atypical bovine spongiform encephalopathy case in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2007 Sep ; 60(5) : 305-308.

7. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)
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

### 髄液中14-3-3タンパク質測定用スタンダード作製

研究協力者: 国立感染症研究所・感染病理部・佐多徹太郎



研究協力者：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

## 1. 研究目的

プリオン病患者家族、および、遺伝性プリオン病発症前 at risk 者に対する心理的社会的支援のニーズや現状について調査し、それをもとに、カウンセリング支援の方法や体制について検討することを目的とした。

## 2. 研究方法

プリオン病患者家族の心理的社会的支援に関する過去の研究報告を洗い出すとともに、当事者であるプリオン病患者家族との面談、電話、メール交換などにより、当事者の方々の心理的社会的な問題を中心に意見を聴取させていただいた。また、未発表の報告として、ヤコブ病サポートネットワークの方々を対象として行われた調査研究についてまとめたものを入手、現状を知る上で参考とした。さらに、2006年7月には米国ワシントン DC にて開催された Creutzfeldt-Jakob Disease foundation の第4回 Annual Family Conference に参加し、遺伝性プリオン病発症前 at risk 者を含む CJD 患者家族、および、米国英国を中心とした医療チームの専門家から、心理的社会的な問題や患者家族の支援体制について最新情報を得た（旅費を含む参加費用は研究費外にて田村の自己負担）。

当事者の心理的社会的支援のニーズや現状についてまとめた後は、心理カウンセリングの理論の応用を検討、複数のプリオン病患者家族に対して実際に心理カウンセリングを実施し、その経験からの考察も含め、今後の方向性について検討した。

（倫理面への配慮）

当事者の意見聴取は匿名で実施し、調査中

に見聞きした症例の情報、および、実際に心理カウンセリングを行った事例の内容については、守秘義務を守り、個々の症例のプライバシーを厳密に尊重するよう配慮した。個人を特定できる情報は本研究には用いていない。さらに、個人を識別できる情報でなくても個別性の高い情報については使用せず、あくまでも一般的、普遍的に用いることのできる情報のみを利用した。

## 3. 研究結果及び考察

### 1) プリオン病患者家族の心理的社会的支援のニーズおよび現状

過去の研究の状況を調査したところ、国内外において、プリオン病に特化した形での心理的社会的問題の調査や支援体制モデルの検討はほとんどなされていなかった。

本研究における調査の結果、患者家族において心理的社会的支援が必要である理由としては、稀な疾患で情報およびその理解が十分でない、疾患メカニズムが難解で混乱や誤解を伴いやすい、感染性に対する不安感、社会的偏見の存在、精神症状に家族が動揺、根本的な治療法がなく絶望感につながりやすい、症状が急速に変化するため心理的適応が時間的に追いつかない、原因がわからないことが心理的ストレスとなる、家族が患者の過去の海外渡航歴や牛肉摂取などについて考えをめぐらして落ち着かない、医原性・感染性プリオン病における怒りの感情、一部の家族性・遺伝性プリオン病家系の人々（特に at risk 者とその家族）における遺伝性に関する不安などがあげられた。また、発症してから確定的な診断がつくまでの間と、プリオン病と確定診断がつ

いた直後の 2 つの場面が、心理的社会的支援を考える上での主な中心であることが、多数の方々からの意見で明らかになった。

支援の現状としては、我が国では、現場の医療者の努力と当事者団体(ヤコブ病サポートネットワークなど)のサポートに頼ることが中心で、専門的な心理的社会的支援の実施体制は十分に整備されていない状況が明らかになった。一方、英国や米国では、精神科医、心理専門職、メディカル・ソーシャル・ワーカーなどが対応している状況も明らかになったが、これらの事例では、日本に比して豊かなマンパワーを活かして対応しており、プリオン病に特化した形での支援を行うというよりも、他の疾患事例同様の一般的な心理的社会的支援の技術が用いられていた。

また、遺伝性プリオン病の方々に対する遺伝カウンセリングは十分に行われておらず、プリオン蛋白の遺伝子診断の前後における遺伝カウンセリング実施例も少なかった。同時に、日本の遺伝カウンセリングの主たる担い手である臨床遺伝専門医、認定遺伝カウンセラーなどにおけるプリオン病やその遺伝子診断の現状の理解は必ずしも十分ではないことが示唆された。

## 2) プリオン病患者家族の心理的社会的支援のあり方の検討

プリオン病は稀な疾患のため十分な情報を入手することが容易ではなく、その情報の理解も簡単ではないことから、専門的な心理カウンセリング以前の問題として、まず最新で十分な情報提供が適切になされることが課題であると考えられた。疾患メカニズムが難解で混乱や誤解を招きやすいことや感染性に対する不安の問題などに対する情報提供の必要性もあげられた。

さらに、プリオン病患者の症状としてみられる精神症状に家族が動揺したり、根本的な治療法がないことに絶望感を抱いたり、とい

う状況に対しては、情報提供支援だけでは足りない可能性も示唆された。

以上のことから、プリオン病患者家族の支援としては、診断、病状、予後などについての最新で十分な情報の提供、情報理解の援助、療養上の助言、福祉制度利用上の助言、当事者団体の紹介、様々な関連職種(メディカル・ソーシャル・ワーカー、心理士、遺伝カウンセラーなど)利用の助言、気持ちの傾聴と共感的理解、心理的負担を軽減する目的でのカウンセリング支援などが考えられた。

## 3) 心理カウンセリング理論・遺伝カウンセリング理論の応用

プリオン病患者家族の心理的社会的な支援に対応するための方法としては、一般的な心理カウンセリングの技術の応用が可能であることが明らかになった。すなわち、当事者の話を傾聴し、共感的理解を示すこと、そして、転院などの選択肢のある場面における自律的な決定の支援、家族関係のサポート、人々の気持ちを認めて再保証すること、医療者との間のコミュニケーションの援助などを行うことが、支援の中心となることが予想された。

また、肉親が治療法のない重篤な疾患を発症したことに対するショックを抱いている家族や、肉親をプリオン病で亡くした家族に対しては、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」のノウハウを応用することが有用であると考えられた。

遺伝性プリオン病家系の方々に対しては、遺伝に関する情報提供と心理的社会的な支援を中心とする遺伝カウンセリングの技術が応用できることが示唆された。

## 4) 心理カウンセリングの実践

調査検討内容を受けて、プリオン病患者家族やプリオン病の心配を抱える人々に対する実際のカウンセリングを電話相談や面談、家

庭訪問などの形で実施した。

その結果、これらの人々の心理支援にあたっては、事前の研究で検討していたとおり、十分な情報提供と一般的な心理カウンセリング理論、および、遺伝カウンセリングの方法論を応用する形で対応することが可能であることを確認した。

#### 4. 評価

##### 1) 達成度について

プリオン病患者家族、および、遺伝性プリオン病発症前 at risk 者に対する心理的社会的支援のニーズや現状についての調査は、支援体制を考えるために十分な程度に達成されたと思われる。また、カウンセリング支援の方法についても検討、実践に用いて有用性を実証することができた。

##### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

これまで国内外において、プリオン病の患者家族の心理的社会的問題やその支援の方法について十分にまとめられたものはなかった。当該研究協力者の立場として担った研究はソフト面の対応であり、純粋な科学研究に比して評価が見えづらいが、患者家族の支援のためには欠かせないノウハウを蓄積することができたと考えられる。今後これらの知見をまとめた形で国内外にて報告し、認知度をあげることによって支援体制の整備につなげていくことが望まれる。

##### 3) 今後の展望

心理カウンセリング、遺伝カウンセリングを中心とした患者家族の支援のニーズとその対応としての方法論はある程度確立したが、現在では当該研究協力者がひとりで支援に対応しており、今後はこうした支援実施のための専門職の人材配置を含むインフラストラクチャーの整備が必要である。また、技術的に

は通常の心理カウンセリング技術を応用するとしても、そこで話し合われるプリオン病の臨床や患者家族の不安・生活上の問題などの知見を心理支援者がある程度把握していることも重要であり、心理支援者がこうした知識を持った上で心理支援に臨むことができるための体制のあり方を検討することが必要であることが示唆された。さらに、心理カウンセリング、遺伝カウンセリング支援の適切な利用を促すために、当事者側、医療者側双方において、これらの支援の実際や意義の認知や理解が進むことが望まれる。

##### 4) 研究内容の効率性について

症例が稀である疾患のため、一般論を導き出すために十分な量のデータを入手することは必ずしも容易ではなかったが、一例一例において充実した聞き取りを行うことができたため、患者家族全体に共通する心理的社会的支援のニーズはある程度見出すことができたと考えられる。また、調査検討研究と並行してカウンセリング実践を行うことにより、検討内容の実効性、有用性も確認することができた。

#### 5. 結論

プリオン病の患者家族や発症前 at risk 者が抱える心理的社会的問題について、当事者や欧米の心理援助職から情報聴取、整理した。また、これらの人々の心理的社会的な支援の方法を検討し、実際のカウンセリングに結び付けて実施、さらにそこから得られた知見を集約して、心理カウンセリング理論やグループ・カウンセリングの方法論などを応用する方向性を見出した。家族性プリオン病家系の人々における遺伝子診断や遺伝カウンセリングのあり方についても検討した。

#### 6. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表：1件

原著論文による発表：0件

それ以外(レビュー等)の発表：1件

そのうち主なもの

論文発表

1. 田村智英子. プリオン病患者家族の方々へのカウンセリング. 日本臨 2007 ; 65(8) : 1447-1453.

学会発表

1. 田村智英子. プリオン病の遺伝子診断の現状と遺伝カウンセリング. 日本遺伝カウンセリング学会. 東京, 2007.5.26.

2) 海外

口頭発表：0件

原著論文による発表：0件

それ以外(レビュー等)の発表：0件

7. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

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