

域遺伝子をクローニングし、高等動物細胞で発現させるための発現ベクターを構築した。

(2) PRB7 の VH 遺伝子および VL 遺伝子を組み込んだ発現ベクターをリポフェクションにより COS-7 細胞に導入した。

(3) PRB7 単鎖抗体遺伝子を含むファージミドベクター (PRB7 / pCANTAB5E) を、大腸菌 (HB2151) に形質転換し、イソプロピル- β -チオガラクトピラノシド (Isopropyl

β -D-thiogalactopyranoside: IPTG) を用いて発現誘導を行ない、培養上清から抗 Etag 抗体カラム (Pharmacia) を用いて単鎖抗体を精製した。

(2) PRB7 単鎖抗体遺伝子をプラスミドベクター (pET28b) にクローニングし、大腸菌の封入体に発現される発現ベクターを構築した。大腸菌の発現系を用いて発現、精製後、単鎖抗体のリフォールディングを行った。

(3) 大腸菌の発現系を用いて発現、精製した遺伝子組み換えヒトプリオン蛋白 (aa23-231) を、Jackson GS (Science 283: 1935-37, 1999) らの方法に準じて、 β シート型プリオン蛋白を試験管内で作製し、結合活性の解析に使用した。こ

のタンパク分子の立体構造は、原子間力顕微鏡、CD スペクトルを用いて解析した。

(倫理面への配慮)

リコンビナントプリオン蛋白を取り扱う全ての実験を、遺伝子組換えの P2 レベル実験室で行った。プリオン蛋白は「動物の伝達性海綿状脳症の実験指針について (案)」に基づいて処理した。

C. 研究結果

PRB7 単鎖抗体遺伝子を含むファージミドベクター (PRB7 / pCANTAB5E) を、大腸菌 (HB2151) に形質転換し、IPTG で発現誘導した培養上清およびペリプラズムから精製された PRB7 単鎖抗体は、 β プリオン蛋白に特異的結合活性を示した。この発現系では、PRB7 単鎖抗体の収量が極めて低いため (10 μ g/L 以下)、PRB7 単鎖抗体遺伝子は大腸菌の封入体に発現される発現ベクターを構築し、発現・精製を行った。その結果、封入体から 1 L の培養当たり 10^{15} mg の PRB7 単鎖抗体が精製された。この試料 (1 mg/ml) を用いて、段階的な透析および希釈によるリフォールディングを行

ったところ、PRB7 単鎖抗体のほとんどは凝集した。溶液中に含まれる PRB7 抗体 (1-2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を用いて、抗体活性を調べたところ、 β プリオン蛋白との結合活性は認められなかった。一方、リフォールディング剤 (三洋化成工業、試供品: RF120) を用いてリフォールディングを行ったところ、10%程度の効率で PRB7 単鎖抗体が得られた。この標品を用いて、プリオン蛋白との反応性を解析したところ、 β 型プリオン蛋白への結合だけでなく、 α 型プリオン蛋白への結合も認められた。ウェスタンブロッティング解析により抗体の性状を解析したところ、分子間のジスルフィド結合による多量体として存在していることが明らかになった。

また、PRB7 のヒト IgG1, IgG2 および IgG3 への抗体エンジニアリングを行い発現系の確立を試みた。PRB7 の VH 遺伝子および VL 遺伝子を組み込んだ発現ベクターをリポフェクションにより COS-7 細胞に導入し、培養上清での抗体の発現をウェスタンブロッティング法により解析したところ、H鎖およびL鎖の発現が認められた。さらに、IgG3 に変換した PRB7 の培養上清を用いて、プリ

オン蛋白との反応性を解析したところ、 β 型プリオン蛋白への結合が認められた。

D. 考察

PRB7 単鎖抗体とホモロジーのある SARS スパイクプロテインレセプターに結合する単鎖抗体の結晶構造解析結果を鋳型として、MOE (菱化システム) を用いてホモロジーモデリングを行ったところ、VL 鎖の CDR 領域は、VH 鎖由来の CDR 領域に比較して埋もれた構造であり、抗体とプリオン蛋白の結合は、VH 領域の CDR ループが主に寄与していることが示唆された。また、PRB7 の 22 番目と 96 番目、161 番目と 226 番目のシステイン残基間でジスルフィド結合が形成されていることが示唆された。リフォールディング剤により調製された PRB7 単鎖抗体は分子間でジスルフィド結合を形成していたが、プリオン蛋白との結合に寄与が少ないと予想される VL 領域のシステイン残基をセリン等のアミノ酸に置き換えることで、分子間の架橋を抑制できる可能性があると考えられる。

PRB7 のヒト IgG1, IgG2 および IgG3 への抗体エンジニアリングを行い発現

系の確立を試みた結果、H鎖およびL鎖の発現が認められた。最近、イムノグロブリンの定常部位が、抗体の特異性に影響することが多数報告されている。今回作製した組み換え型抗体とプリオン特異性を解析する必要がある。

E. 結論

ヒト末梢血リンパ球から単離した mRNA を用いて、イムノグロブリンの H 鎖 (IgG1, IgG2 および IgG3) の定常領域遺伝子、L 鎖については、 κ 鎖の定常領域遺伝子をクローニングしカセットベクターを構築した。このベクターに、PRB7 抗体遺伝子の可変部領域遺伝子をクローニングし、高等動物細胞で発現させるための発現ベクターを構築した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表

1. ヒト β プリオン蛋白特異的なヒト抗体の確立の試み、第31回日本分子生物学会年会、第81回日本生化学大会合同大会、2008年12月、神戸
2. 全長プリオン遺伝子発現で作製した α 型と β 型プリオンの電気泳動分離条件検討、第31回日本分子生物学会年会、第81回日本生化学大会合同大会、2008年12月、神戸
3. ヒト β プリオン蛋白特異的なヒト抗体と直接検出法、プリオン研究会、2008年8月、北海道

H. 知的所有権の出願・登録状況

ヒト抗プリオン抗体および該抗体フラグメント、PCT/JP2005/015121

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
山口尚宏 布施隆行 石橋大輔 新 竜一郎 西田教行	ヒトのプリオン 病の病態		最新医学 新興・再興感 染症 (前篇)	最新医学 社	東京	2008 3月号 増刊	77-96

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Atarashi R, Wilham JM, Christensen L, Hughson AG, Moore RA, Johnson LM, Onwubiko HA, Priola SA, Caughey B	Simplified ultrasensitive prion detection by recombinant PrP conversion with shaking.	Nature Methods Mar	5(3)	211-2	2008
Yoshikawa D, Yamaguchi N, Ishibashi D, Yamanaka H, Okimura N, Yamaguchi Y, Mori T, Miyata H, Shigematsu K, Katamine S, Sakaguchi S.	Dominant-negative effects of the amino-terminal half of prion protein on neurotoxicity of PrP-like protein/doppel in mice.	Journal of Biological Chemistry	283(35)	24202- 11	2008
Yuka Takakura, Naohiro Yamaguchi, Takehiro Nakagaki, Katsuya Satoh, Jun-ichi Kira, Noriyuki Nishida	Bone marrou stroma cells are susceptible to prion infection.	Biochemical and Biophysical Research Communicatio ns	377	957-961	2008

Sakaguchi S.	Antagonistic roles of the N-terminal domain of prion protein to doppel.	Prion	2(3)	107-111	2008
Nasu-Nishimura Y, Taniuchi Y, Nishimura T, Sakudo A, Nakajima K, Ano Y, Sugiura K, Sakaguchi S, Itohara S, Onodera T.	Cellular prion protein prevents brain damage after encephalomyocarditis virus infection in mice.	Archives of Virology	153(6)	1007-1012	2008
Sakaguchi S	Recent development in therapeutics for prion diseases.	Expert Opinion on Therapeutic Patents	18(1)	35-59	2008

研究成果の刊行物・別刷

最新医学・2008年・3月増刊号（別刷）

新興・再興感染症（前篇）

ヒトのプリオン病の病態

山口 尚 宏 布施 隆 行 石 橋 大 輔
新 竜一郎 西 田 教 行

最新医学社

● 各 論

ヒトのプリオン病の病態

* 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系専攻
感染免疫学講座 感染分子解析学分野

** 同 准教授

山 口 尚 宏* 布 施 隆 行* 石 橋 大 輔*
新 竜 一 郎* 西 田 教 行**

要 旨

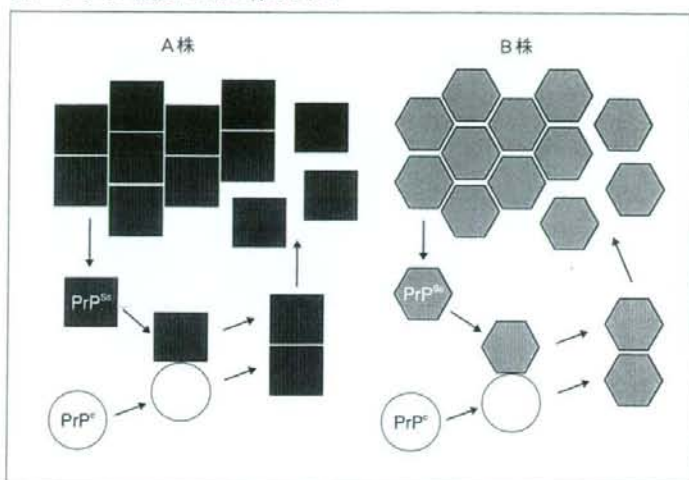
プリオン病は致死性の神経変性疾患である。ヒトで最も多いのはCreutzfeldt-Jakob病(CJD)で孤発性、家族性、感染性の3つに分けられ、さらに正常型プリオンタンパクのコドン129番目のアミノ酸多型に基づき細分類される。病的には脳の空胞変性とグリオシス、異常型プリオンタンパク(PrP^{Sc})の沈着を特徴とする。確定診断には中枢神経の組織からPrP^{Sc}を検出しなければならず生前に確定診断をつけることは難しい。臨床診断にはMRIの拡散強調画像が有用である。現時点では有効な治療法やスクリーニング検査法は確立されていない。

は じ め に

プリオン病は伝達性海綿状脳症(TSE)として知られる致死性の神経変性疾患である。ほかの神経変性疾患との大きな違いは伝達性の名が示すとおり感染するという点である。この伝達性というのは本

キーワード：伝達性海綿状脳症, Creutzfeldt-Jakob disease (CJD),
Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome (GSS),
致死性家族性不眠症 (FFI), 硬膜移植 CJD

図1 プリオン仮説における株のモデル



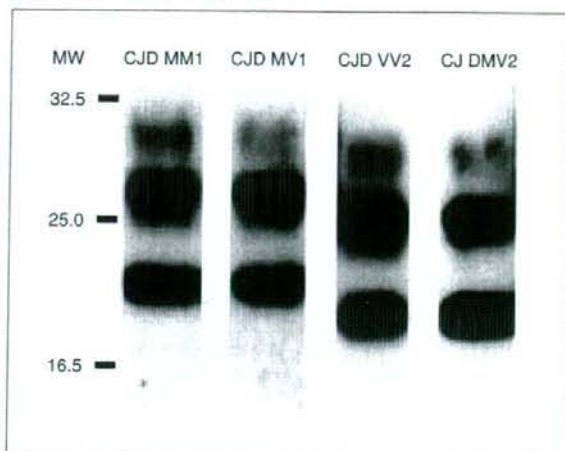
プリオン仮説によると、株の性質は PrP^{sc} の立体構造が規定していて、 PrP^{sc} が PrP^{c} に作用することでその株特有の立体構造を持つ PrP^{sc} になる。

来、実験的に動物に病気をうつすことができるという意味であったが、最近では狂牛病ことウシ海綿状脳症 (BSE) の流行、また、この BSE が原因とされる変異型 Creutzfeldt-Jakob 病 (vCJD) の出現、硬膜移植などによる医原性 CJD などが発生している。

分子病態

プリオン病の原因を説明するのに現在最も有力とされるプリオン仮説によると、感染因子とされる異常型プリオンタンパク (PrP^{sc}) が体内に入り込み、それによりヒトの持つ正常型プリオンタンパク (PrP^{c}) が異常型プリオンタンパクに構造変換し、 PrP^{sc} が蓄積することにより発症するとされる (図1)。 PrP^{c} は神経系・リンパ系の細胞に多く発現しており、経口感染のルートとしては小腸のパイエル板などのリンパ組織に取り込まれ、脾臓・扁桃などのリンパ組織に運ばれ、末梢神経を通過して中枢神経に入り脳に蓄積するのではないかと考えられている。

この感染因子プリオンにはウイルスと同様に株があり、幾つかの種類に分類できる。この株は ① 潜伏期の長さなどの臨床所見、② 病

図2 MM1, MV1, VV2, MV2のPrP^{Sc}

プロテアーゼ処理後の PrP^{Sc} のウエスタン・ブロット法による検出。抗 PrP 抗体によって検出される PrP の移動度が Type ごとに異なる。(長崎大学、佐藤克也先生提供)

変（空胞）の広がりなどの病理所見，③ 病変部に蓄積する PrP^{Sc} の分子量の違いで区別される。ヒトでは Type 1 と Type 2 の主に2つの株が存在し，図2のように判別できる（プロテアーゼ処理後のウエスタン・ブロット法）。この株の多様性は PrP^{Sc} アミロイドの高次構造の違いによって起ると考えられている（図1）。

また，プリオン病には種の壁（species barrier）が存在する。一般的に接種側と受容側の動物が同種である場合は病気の潜伏期が短く，異なる場合はそれが長くなり発症しないことも多い。これは種によって PrP^C のアミノ酸配列が少しずつ異なるため起ると考えられている。また，ヒトの PrP^C にも多型があることが知られている。有名なものではコドンの 129 番目がメチオニン（M）のものとはバリン（V）のものがあ，それがプリオン病の病態にも影響してくる¹⁾。この多型は人種・民族で大きく異なり，イギリス人では MM 型が 37%，MV 型が 51%，VV 型が 12% であるが，日本人では 90% 以上が MM 型で，MV 型が残り 1 割程度を占め，VV 型はほとんどいないとされている。イギリスでの vCJD はそのほとんどが MM 型であるため，BSE プリオンに対する感受性が MM 型において高いのではない

かと言われている。

疫 学

ヒトのプリオン病のうち、原因不明の孤発性 CJD (sCJD) による死亡率は、これまでに調査された国においてはほぼ共通で、人口 100 万人に 1 人前後の割合である²⁾。それに対し、遺伝性プリオン病の占める割合は国ごとに異なり、イスラエル、スロバキア、イタリアでは非常に高い。これは遺伝性プリオン病の一部の家系がこれらの国に集積しているためである。日本での疫学データは CJD サーベイランス委員会により、1999 年 4 月から 2007 年 2 月までの調査で 918 例のプリオン病が報告されている³⁾。それによれば、そのうち sCJD が 716 例 (78%) を占め、次に遺伝性プリオン病 128 例 (14.0%)、感染性プリオン病 72 例 (7.8%)、病型不明のプリオン病 2 例 (0.2%) の順であった。感染性プリオン病の 1 例はイギリス滞在時に感染したと考えられる vCJD であり、残りの 71 例はすべてプリオンに汚染された乾燥硬膜移植によるものである。

遺伝性プリオン病は 2006 年時点で 408 例のプリオン遺伝子検査が分かっており (421 例実施)、このうち変異を認めたのは 89 例である。内訳はコドン 102 が 21 例、コドン 105 が 3 例、コドン 178 が 3 例 [家族性 CJD (fCJD) が 1 例、致死性家族性不眠症 (FFI) が 2 例]、コドン 180 が 24 例、コドン 200 が 19 例、コドン 208 が 1 例、コドン 232 が 10 例、コドン 180+232 が 1 例、insertion が 3 例、詳細不明が 4 例であった。

ヒトのプリオン病の病態

ヒトのプリオン病の基本的な分類は表 1 に示す。sCJD 患者における病態は、正常型プリオンタンパク (PrP^C) の多型と株 (Type 1 か Type 2) に深く関与し 4~6 グループに分類することが提唱されている⁴⁾。

1. 孤発性 CJD (sCJD)

sCJD は全体の CJD の約 85% を占める最も一般的な型である。典型的な sCJD 患者は 129 MM または 129 MV で Type 1 株の MM

表1 ヒト伝達性海綿状脳症 (TSE) の分類

病名	原因
クールー (Kuru)	感染 (食人)
クロイツフェルト・ヤコブ病 (Creutzfeldt-Jakob disease: CJD)	
孤発性	不明
家族性 (遺伝性)	プリオン遺伝子変異
感染性 (医原性)	感染 (医原性)
ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー症候群 (Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome: GSS)	プリオン遺伝子変異
致死性家族性不眠症 (Fatal familial insomnia: FFI)	プリオン遺伝子変異
新変異型クロイツフェルト・ヤコブ病 (new variant Creutzfeldt-Jakob disease: vCJD)	感染 (BSE ウシの脳・脊髓)

(または MV) 1 型である (表 2)。この型は sCJD の 70% 程度を占め、顕著な認知症、ミオクロヌス、脳波上の周期性同期性放電 (PSD) を認める。発症後の罹病期間は平均 4 ヶ月であり、主な症状として認知機能障害、運動障害、精神症状がみられる。次に多い sCJD は VV2 型で全体の 16% 程度を占める。平均罹病期間は 6 ヶ月程度で、進行するとすべての患者で認知症やミオクロヌス、錐体路症状などがみられるが、脳波の PSD が認められる患者は 10% 以下である。そのほかに MV2 型、MM2 型 VV1 型があり sCJD の 1~2% を占める。MM2 型はさらに視床型 [孤発性致死性不眠症 (SFI) 型] および皮質型に分けられる。それぞれの型によって、罹病期間ならびに主症状、病理像が異なる¹⁾。

2. 家族性 CJD (fCJD)

fCJD は CJD 患者の 5~15% 程度でみられ、常染色体上の優性遺伝によって起る (表 3)。多型は PrP コドン 200 のアミノ酸変異が最も多く、やや少なくコドン 178, 208, 210 の変異も知られている。さらに日本では、コドン 180 と 232 の 2 つが変異した CJD 患者が報告されている²⁾。コドン 200 の変異を持つ患者における罹病期間は 8 ヶ月程度である。病態は sCJD と非常に共通性があり、認知障害、精神障害を主症状に、進行すると認知症、ミオクロヌスがみられる³⁾。また、コドン 178 の変異は、イングランド、フィンランド、ハンガ

表2 孤発性 CJD の分類

病型	平均発症年齢 (年)	平均罹病期間 (月)	特徴的な臨床所見	脳波所見	神経病理学的特徴	旧分類
MM1 / MV1	60	4	認知症, ミオクローヌス, 小脳障害	75 ~ 85 % の患者で認められる	5 % の患者において脳組織におけるスポンジ状変性, グリオシス, 神経脱落, アミロイド斑	Myoclonic, Heidenain variants
VV2	—	6	認知症, ミオクローヌス, 錐体路症状	10 % 以下	スポンジ状変性, グリオシス, 神経脱落	Ataxic variant
MM2 (視床型 / SFI)	—	24	認知症, 不眠, 視覚異状, 小脳障害	無し	グリオシス, 神経脱落	Tharamic variant
MM2 (皮質型)	—	16	認知症, ミオクローヌス, 錐体路症状, Parkinsonism	無し	大脳皮質, 基底核, 視床等でスポンジ状変性	なし
MV2	—	17	失調症状, 認知症, 精神異常, 錐体路症状	—	小脳の Kuru 斑, スポンジ状変性	Kuru-plaques variant
VV1	39	15	認知症	無し	MM1 と類似, 海馬皮質での病変が強い	なし

リーに起源があると考えられているが, この変異を持つ家系は 100 % 近い割合で発症する, コドン 178 の変異がある fCJD は罹病期間が 23 ヶ月と長く, さらに脳波 PSD が認められないなどの特徴がある⁶⁾.

3. ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー (GSS) 症候群

GSS は常染色体優性の遺伝性疾患であり, その主な変異はコドン 102 であり, さらにコドン 105, 117, 145, 198, 217 においても変異が報告されている (表 3). GSS は多型によって発症年齢や罹病期間が異なり, ささまざまな臨床所見を示す. GSS の病態は, 主にミオクローヌス, 小脳失調症, 歩行異常, 認知症, 構音障害, 眼ディスメトリア, そして脚の反射低下および消失がある. コドン 102 の変異は, GSS において最も頻繁にみられる変異であり, 主症状は小脳機能障害で, 一般的にゆっくりとした進行で歩行障害, 運動失調を示す. 平均発症年齢は 48 歳で罹病期間 5 年程度を有する. コドン 105 の変異では発症年齢が 44 歳程度で 8 年程度の罹病期間を有する. 痙攣性の

表3 主な遺伝性プリオン病

遺伝子変異	病型	平均発症年齢 (年)	平均罹病期間 (月)	特徴的な臨床所見	脳波所見	神経病理学的特徴
E200K	fCJD	55	8	孤発性 CJD と類似	64 ~ 74 % の患者で認められる	孤発性 CJD と類似
D178N (129V)	fCJD	46	23	孤発性 CJD と類似	極めてまれ	孤発性 CJD と類似
T183A	fCJD	45	50	人格変化, 認知症, Parkinsonism	まれに	脳組織におけるスポンジ状変性, 前頭および側頭様において軽いグリオシス
P102L	GSS	48	60	ほとんどが歩行異常と運動失調	極めてまれ	非常に多くのアミロイド斑, 神経原線維変化, グリオシス, 神経脱落がみられる. 激しいスポンジ状変性は認められない.
P105L	GSS	44	106	痙攣性麻痺, 認知症	無し	非常に多くのアミロイド斑, 神経原線維変化, グリオシス, 神経脱落がみられる. スポンジ状変性は認められない.
A117V	GSS	38, 41 (Franch)	41	認知症, 錐体および錐体外路症状, Parkinsonism	極めてまれ	非常に多くのアミロイド斑, まれな神経原線維変化, スポンジ状変性, グリオシス, 神経脱落
F198S	GSS	52	72	運動失調, Parkinsonism, 認知症	極めてまれ	非常に多くのアミロイド斑, 神経原線維変化, スポンジ状変性, グリオシス, 神経脱落
D178N (129M)	FFI	49	13	睡眠および自律神経障害	まれに	神経脱落, 視床のほとんどに軽いグリオシス, スポンジ状変性並びにプラーク斑がまれにみられる

P102L はコドン 102 番目のプロリン (P) がロイシン (L) に置換されたことを意味する。アミノ酸の一字表記については他書を参考にされたい。

麻痺症状や小脳機能障害, 認知症が特徴的にみられる。コドン 117 の変異は, 主に認知症や錐体および錐体外路症状を示す。歩行機能障害, 顕著な運動失調, 仮性球麻痺, そして Parkinsonism が報告されている。患者の中には運動失調を起す者もいるが, それらは比較的軽度である。コドン 198 の変異は, 小脳性運動失調, 認知症, Parkinsonism の特徴を示す。

4. 致死性家族性不眠症 (FFI)

FFIは常染色体優性遺伝で起り、PrP コドン 178の多型が病態に関与することが分かっている。FFIは視床関連による深刻な睡眠障害である難治性不眠症や自律神経系障害がみられる。発症年齢は49歳であり罹病期間は13ヵ月程度である。FFIの睡眠障害は、睡眠周期の急速な眼球運動や徐波睡眠(ノンレム睡眠)の消失を特徴とし、自律神経系障害として多汗、高体温、高血圧、頻脈が一般的にみられる。また、小脳障害、夢幻状態、ミオクローヌス、錐体路徴候も報告されている。FFIの患者では典型的なCJD患者のような脳波PSDは認められない。FFIはコドン178の多型と同時にコドン129の多型の両方が大きく病態に影響を及ぼす。コドン129がMM型のFFI患者では罹病期間が平均12ヵ月であるのに対して、MV型は平均21ヵ月と延長するが、2つのグループにおける平均発症年齢に差はない⁷⁾。

5. 医原性CJD

ヒトからヒトへのCJD伝達については、CJD患者からの角膜移植を受けた患者が移植後にCJDを発症した症例が報告され、ほかの医原性伝達については、脳波電極や脳神経外科器具、死体より得られた性腺刺激ホルモンやヒト成長ホルモン、硬膜などが報告されている。硬膜移植CJDは全世界で191例報告されているが、そのうち122例が国内で発生し、日本で医原性CJDと言えば硬膜移植CJDのことを指すと言っても良い¹²⁾。医原性CJD患者の潜伏期間の長さや臨床症状は、病原体の侵入経路に大きく左右される。ヒト成長ホルモン関連CJDでは、潜伏期間は12年以上と長く、小脳機能障害にはっきりと現れる傾向がある。歩行困難および失調症を示すが、sCJDにみられる認知症は遅れてみられ軽度である。一方、硬膜移植CJDにおいては感染組織が直接脳に接するために発症は早く3~15年程度である。症例数は1995年をピークに徐々に減ってきているが、移植から発病までの期間は長期化する傾向にある。病型はsCJDと同様の臨床像を示す典型群と、比較的緩徐進行で脳にプラークを認める非典型群とに分けられる。

6. 変異型CJD (vCJD)

vCJDは、これまでに知られていた古典的なCJDとは異なる臨床

所見から命名され、疫学、実験的な解析から BSE が人へ伝播した人獣共通感染症として報告された。vCJD 患者における平均発症年齢は若く 29 歳程度であり、罹病期間は 16 ヶ月程度である。臨床的所見として顕著な行動変化が観察されるものの、脳波にて典型的な PSD は認められない。そして、数週間～数ヵ月以内に運動失調、認知症、ミオクロヌスなどの神経障害を示す。患者の行動変化として、興奮、好戦的の症状、不安感、無気力、うつ状態、情動不安定、不眠症状、集中力低下、偏執性妄想、無関心などを示し、2つの行動変化を合併することもある。さらに、異常錯覚や健忘症を示す者もいる。神経学的特徴は、急速な進行性の運動失調、認知機能障害、不随意運動、尿失禁、進行性の無動無反応、無言症がみられる。さらに同時期に多くの患者で妄想が認められ数時間～数日間繰り返される⁹⁾。vCJD 患者における PrP コドン 129 はすべて MM 型であり、病態との関連性は見いだされていない。また、一般的な CJD 患者において高い感度と特異性で検出される 14-3-3 タンパクについては検出されない患者がいる。

病 理

CJD の基本的な神経病理所見は⁹⁾、① 神経網の海綿状変化 (spongiform change)、② 神経細胞の変性と脱落、③ 異常な星状グリア細胞 (アストロサイト) の増殖 (グリオシス) であり、この病変は大脳皮質、間脳、大脳基底核、海馬、小脳などに分布する。また、抗プリオンタンパク抗体を用いた免疫組織学的検討により、異常型プリオンタンパク (PrP^{Sc}) が陽性であることが必須である。

1. 神経網の海綿状変化 (spongiform change: 空胞変性)

主に大脳皮質に見られ、間脳、大脳基底核に波及している。皮質全層に小円形、楕円形の空胞が多数観察される。その空胞の周りに増殖したグリア細胞が出現し、取り囲んでいる。急性期では大脳皮質に小空胞が融合してブドウの房状のような巨大な海綿状を呈することもある。末期には海綿状変化は消失し、瘢痕化し薄くなる (図 3)。

2. 神経細胞の変性と脱落

高度な病変では神経細胞はほとんど消失しているが、残存する神経

図3 HE染色を用いたヒトプリオン病における剖検脳での神経網の海綿状変化 Spongiform change (空胞変性)



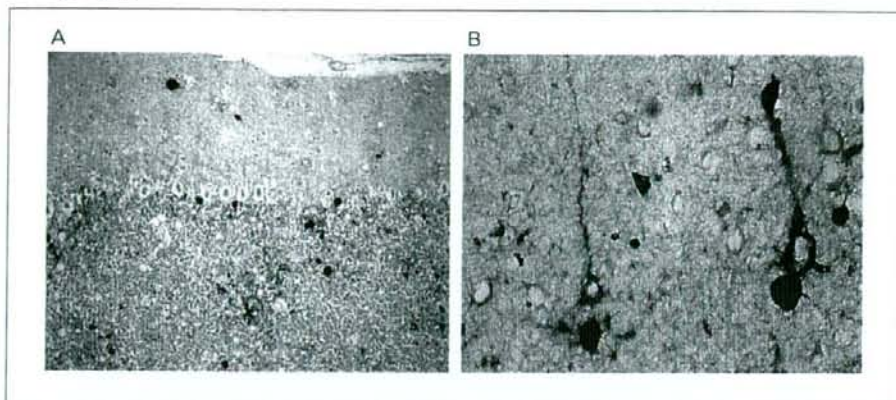
(長崎大学, 佐藤克也先生提供)

細胞では, 細胞体が膨張し, 虚血後の変化のようになる。また, 中心性色質融解 (central chromatolysis) や膨化神経細胞 (inflated neuron) などの細胞体が膨張し, 核が偏在する魚眼状の変化を呈する神経細胞が大脳皮質深層部に見られる。さらに, レビー小体に類似した構造を有する神経細胞も観察される¹⁰⁾。

3. 異常な星状グリア細胞 (アストロサイト) の出現 (グリオシス)

Holzer 染色により星状グリア細胞の増加および肥大化が観察される。海綿状変化のあまり見られない小脳の皮質や皮質下白質, 視床の一部では線維性のグリオシスが先行している。星状グリア細胞の反応は, 同一例においても部位によって異なるのが特徴である。グリア線維の形成はほかの変性疾患や破壊性病変に比べ弱い傾向である。ミクログリアは, 軽度の増加がみられるが, グリア結節, 神経食現象 (neuronophagia) などはほとんどみられない。以上の基本的な所見に加えて抗プリオンタンパク抗体を用いた PrP^{Sc} の沈着様式の染色で観察する必要がある (図4)。その染色性は, 老人斑のように固まり限局して沈着するブラーク型 (plaque type: 図4A) とびまん性に一樣に沈着するシナプス型 (synaptic type: 図4B) に分かれる。さらに, ニューロンの周囲にみられる perineuronal や空胞の周囲にみ

図4 抗プリオンタンパク抗体を用いたヒトプリオン病における剖検脳での異常型プリオンタンパクの沈着の染色



(長崎大学, 佐藤克也先生提供)

られる perivacuolar などのパターンもある¹¹⁾。

CJDでは主たる病変部位は大脳皮質であるが、大脳白質、間脳、大脳基底核、小脳にも病変が及んでおりそれぞれに特徴がある。まず、大脳皮質は、基本的な所見が多く見られる初発の部位であり、初期においても海綿状変化は全層にわたって出現し肥大化したグリアが見られる。大脳白質は病変の起きやすい部位であり、初期から髄鞘が脱落する傾向にある。また、ミクログリアの反応がよく観察される。視床は大きく障害を受ける神経核であるが、海綿状変化や神経細胞の脱落は大脳皮質に比べ少ない。線維性のグリオシスが多く見られ、初期から病変が観察される。大脳基底核では尾状核、被殻において海綿状変化などの基本的な病変が観察される。淡蒼球では海綿状の変化は少なく、淡明化を呈する。小脳では海綿状変化は見られないが、明らかな神経細胞の脱落が観察される。プルキンエ細胞よりも顆粒細胞層の脱落が顕著である。白質では皮質直下のグリオシスが観察され、深部の髄質では淡明化を呈している。

4. 孤発性CJD (sCJD) の病理

sCJDは従来は古典型、失調型、視床型(視床に限局して病変の強いStern型)、さらに後頭葉、頭頂葉に病変が強いHeidenhain型、小脳病変が強いataxic form、大脳白質病変が高度である全脳型など

に分類されてきた。近年、コドン 129, 219 の正常多型により病理に違いが認められ、さらに株における病理の違いについても指摘されている¹⁾。最も多いとされる MM1/MV1 型では大脳皮質、線条体、視床、小脳における海綿状変化が見られ、グリオシス、神経細胞の脱落はさまざまである。PrP^{Sc} の沈着は大脳皮質、視床と小脳皮質においてびまん性に沈着するシナプス型である。VV2/MV2 型では大脳皮質の深層で強い海綿状変化がみられる。PrP^{Sc} の沈着はびまん性であるが、小脳の皮質にブラーク型を認める症例もある。MV2 型は、上記に加えて小脳の皮質にブラーク型の沈着が多数観察される。MM2-視床型 (SFI) は視床と下オリーブ核の萎縮が顕著で、組織学的に視床内側核と下オリーブ核で神経細胞の脱落とグリオシスを認めるが、海綿状変化はない。PrP^{Sc} の沈着は陰性のこともある。MM2-皮質型では、PrP^{Sc} の沈着を伴う大型の空胞が大脳皮質に見られるが、小脳病変は軽度である。VV1 型は散発性 CJD の 1% を占め、大脳皮質と線条体で強い病変を認めるが PrP^{Sc} の沈着はびまん性で軽度である。

5. 遺伝性プリオン病の病理

fCJD ではアミノ酸の変異はこれまで 15カ所以上確認されているが、その大部分は MM1 型の sCJD と同様の病理変化を示す。GSS では、ブラーク型の PrP^{Sc} の蓄積が小脳分子層を中心として観察され大脳灰白質に認めることもある¹²⁾。コドン 178 番変異を有し同一アレル上に 129 M を伴う場合起る FFI では、MM2-thalamic type の sCJD と同様の病理変化を示す。一方、129 V を有する場合は、FFI 症状を示さず、病変の広がりには MM2-SFI 型の sCJD と同様である¹³⁾。

6. 硬膜移植 CJD (duraCJD)/変異型 CJD (vCJD) の病理

duraCJD では、ほとんどの症例で大脳皮質に高度な海綿状変化を認める。一部の例にはブラークが見られ¹⁴⁾、vCJD でみられるフロリッド・ブラークと同様である¹⁰⁾。vCJD の病理の特徴は、大脳および小脳皮質のフロリッド・ブラークの出現である。このブラークは PrP^{Sc} の斑状の沈着の周囲に海綿状態を形成する空胞が取り囲んで花弁状に観察される。また、vCJD では、神経細胞の脱落とグリオシ