

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表 1 CJD 193 症例の検査結果のまとめ

	総数	14-3-3 蛋白	総タウ 蛋白	DWI
古典型 CJD	157 例	88.7%	95.9%	95.5%
MV 非典型	1 例	0.0%	0.0%	100.0%
MM2 皮質型	8 例	50.0%	100.0%	100.0%
家族性				
V180I	10 例	50.0%	80.0%	100.0%
M232R	2 例	0.0%	100.0%	100.0%
144 塩基対挿入	2 例	0.0%	50.0%	0.0%
硬膜移植後 CJD	8 例	100.0%	100.0%	100.0%
GSS	6 例	0.0%	33.3%	0.0%
	193 例	86.5%	95.5%	92.8%

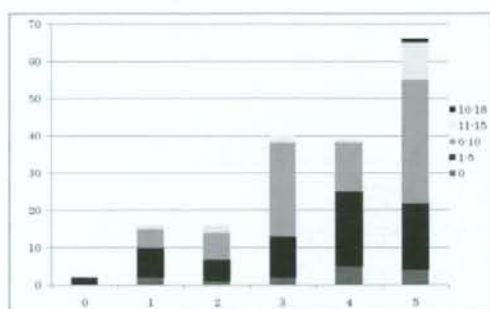


図 3 Modified Ranking Scales と DWI スコアリング化の検討

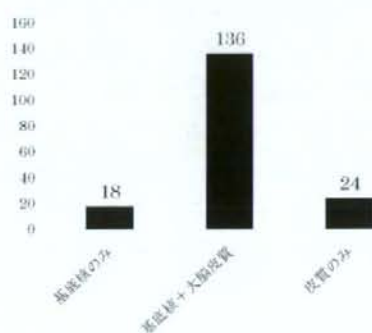


図 4 DWI の高信号領域の検討

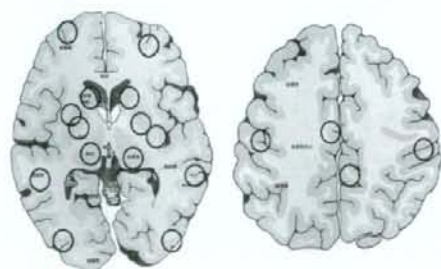


図 1 スコア化 (DWI-CJD-POINT)

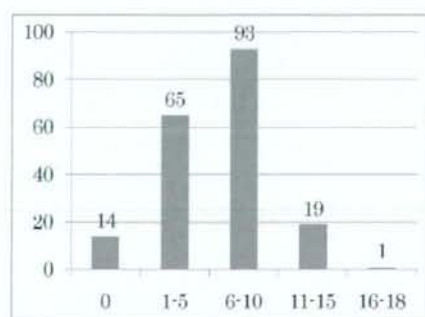


図 2 DWI スコア化の検討

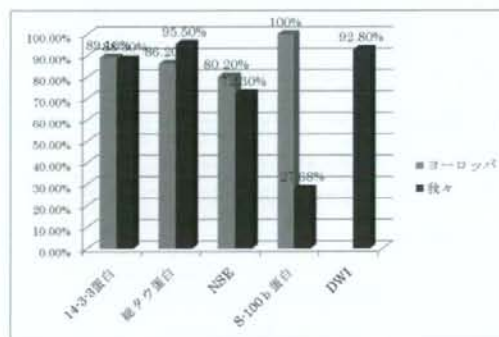


図 5 DWI と髄液中の生化学的マーカーの検討

標準化画像を用いたプリオン病診断システムの構築に向けて

研究分担者：湯浅 龍彦 鎌ヶ谷総合病院千葉神経難病医療センター
研究協力者：藤田 浩司 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部臨床神経科学
研究協力者：原田 雅史 徳島大学医学部保健学科診療放射線技術学
研究協力者：佐々木真理 岩手医科大学先端医療研究センター

研究要旨

プリオン病の早期診断に拡散強調画像(DWI)が有用との知見を、診断基準に取り入れ広く活用するために、画像標準化法の確立と普及に関する方策を提案した。ASIST-Japan による DWI 表示条件標準化が有用との予備研究を踏まえ、「Creutzfeldt-Jakob 病(CJD)の早期病変判定における標準化 DWI の有用性に関する多施設共同読影研究」を開始した。対象は早期に 1.5 Tesla MRI が施行された孤発性 CJD 60 例、対照 40 例で、迅速な完了を要する。これに関連して、FLAIR 撮像条件として TR 10,000ms, TI 2,300ms 程度を推奨、MRI 撮像ルーチンとして UCSF 方式を紹介した。本邦全域で画像を用いた早期診断を可能とするため、画像診断支援事業の開始、画像診断ネットワークの形成を提言した。

発表者以外のプリオン病画像小委員会メンバー
(五十音順)：

佐藤克也、三條伸夫、志賀裕正、白石 淳、
調 漸、高野大樹、長田 乾、浜口 毅、
前田哲也、町田 明、山田正仁、村山繁雄
千葉ローカル画像委員会：

寺田一志(東邦大学医療センター佐倉病院
放射線科)

A. 研究目的

プリオン病の早期診断に拡散強調画像(DWI)が有用との知見を診断基準に取り入れ、普遍的に活用するための方策を提案した。

B. 研究方法(および倫理面への配慮)

画像小委員会での議論を踏まえ、提案した。本研究では、患者に直接介入することなく、臨床の範囲で得られる検査所見を利用した。多施設で検討する事項は、必要に応じて個々

の施設・組織における倫理委員会での承認を得た。

C. 研究結果/D. 考察

共同研究を開始し、診断支援システムの構築を提案した。DWI 表示条件標準化が有用との予備研究を踏まえ「CJD の早期病変判定における標準化 DWI の有用性に関する多施設共同読影研究」を開始した。対象は早期に MRI が施行された孤発性 CJD(ほぼ確実例または確実例)60 例、対照(他疾患の疑いで MRI を施行され異常所見が認められなかった例)40 例。MRI の条件は、1.5 Tesla による水平断 DWI と FLAIR(同一の位置・FOV・スライス厚:5-6mm)、DWI は $b=1,000s/mm^2$ 、推奨として FLAIR は TR 10,000ms, TI 2,300ms 程度、基準線は AC-PC 線または OM 線に平行、である。画像の提出方法は、匿名化した DWI・b0 画像・FLAIR を DICOM 形

式で CD-R 等に保存し、責任者に送付する。添付する臨床情報は年齢、性別、発症から検査までの期間(週)など最小限でよい。今後迅速な登録と早期の研究完了が望まれる。

ここで、FLAIR の撮像条件として TR 10,000ms, TI 2,300ms 程度を推奨として提案した。その根拠は、TR が 8,000ms 以下、または TI が TR に比し短い場合、病変のコントラストが低下することが脳梗塞等で指摘されているためである。ただし、プリオン病診断における妥当性に関しては今後検証を要する。

次に、プリオン病及び関連疾患(認知症等)の診断に際して MRI 撮像ルーチンを統一することを提案した。その項目案は、T1WI 矢状断、T2WI 水平断、FLAIR 冠状断、DWI 水平断、T2*WI 水平断、MRA 原画+MIP(UCSF 方式)にプリオン病診断で汎用される FLAIR 水平断を加えたものである。ルーチンを定める利点は、異なる施設・患者・検査間で共通の情報が得られること、予め矢状断や冠状断を含み診断精度の保持が期待できることである。

さて、画像を含む診断基準作成に向けた理論的整備と並行して、実際に早期診断が広く可能となるためのシステム作りが期待される。そこで画像診断支援事業構想および画像診断ネットワーク形成を提言した。

画像診断支援事業は、本邦でプリオン病が疑われる患者の早期診断・治療のため、高精度な画像診断を迅速に提供することを目指す。方法は、画像を DICOM 形式またはフィルムで拠点施設に送付して頂き、プリオン病に関わる画像診断の専門家らが迅速に回答する。拠点はローカル単位で複数設け、それらをネットワーク化する。診断の質を保証し向上させるためには、画像診断の専門家育成に加え、病理診断あるいは生物学的マーカーの裏付けが必須となる。将来的には SPECT、PET、その他生物学的マーカーを取り入れた総合的な診断システムにつながることを期待される。

E. 結 論

ここに紹介した共同研究によって標準化 DWI の有用性が証明されれば、既報告の知見と併せて MRI(DWI)をプリオン病の診断基準に採用する根拠が整うと考えられる。一方、実際にプリオン病の早期診断を広く可能とするためには、画像診断支援事業やネットワーク形成を含め、診断システムづくりが肝要である。

[参考文献]

- 1) Sasaki M, Ida M, Yamada K, Watanabe Y, Matsui M. Standardizing display conditions of diffusion-weighted images using concurrent b0 images : a multi-vendor multi-institutional study. Magn Reson Med Sci. 6 : 133-137, 2007

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表(2008/4/1~2009/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) 佐々木真理. プリオン病の早期診断における拡散強調画像. 神経内科. 69 : 307-309, 2008
- 2) 高野大樹, 前田哲也, 長田 乾. プリオン病の早期診断における SPECT 画像. 神経内科. 69 : 310-315, 2008
- 3) 志賀裕正. 特殊な病型の Creutzfeldt-Jakob 病画像. 神経内科. 69 : 316-322, 2008
- 4) 浜口 毅, 野崎一郎, 篠原もえ子, 山田正仁. 孤発性 CJD MM2 皮質型と視床型. 神経内科. 69 : 323-328, 2008
- 5) 町田 明, 三條伸夫, 水澤英洋, 湯浅龍彦. プリオン病と鑑別すべき疾患の画像. 神経内科. 69 : 329-335, 2008
- 6) Fujita K, Nakane S, Harada M, Izumi Y, Kaji R. Diffusion tensor imaging in

patients with Creutzfeldt-Jakob
disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry.
79 : 1304-1306, 2008

2. 学会発表

特になし

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

プリオン持続感染 Neuro2a における異常型プリオン蛋白の細胞内局在

研究分担者：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

研究協力者：山崎 剛士 北海道大学大学院獣医学研究科プリオン病学講座

研究要旨

PrP 分子のアミロイド原性の高い領域(aa112-119)の近傍を認識する抗 PrP モノクローナル抗体(monoclonal antibody, mAb) 132 を用いて間接蛍光抗体法を行うと、プリオン持続感染細胞に存在する PrP^{Sc}を再現性良く検出できることから、mAb132 を用いてプリオン持続感染細胞に存在する PrP^{Sc}の細胞内局在を詳細に解析した。既報のように、lysosome マーカーと共局在する PrP^{Sc}が認められたが、特徴的な所見として、核の近傍で lysosome マーカーとは共局在しない PrP^{Sc}が検出された。また、核の近傍で検出される PrP^{Sc}は、trans-Golgi network (TGN)のごく近傍に局在しており、Cholera toxin subunit B の細胞内輸送経路と密接に関連することが示唆された。さらに、PrP^{Sc}は endosome から TGN への蛋白質輸送に関わる因子の一つである retromer の構成要素と共局在した。small interfering RNAにより retromerの構成要素である vacuolar protein sorting 35 の発現を抑制しところ、細胞内の PrP^{Sc}量が減少するとともに、PrP^{Sc}が核近傍で認められなくなった。以上の結果は、endosome から TGN への蛋白質輸送経路が PrP^{Sc}の合成に関与する可能性を示唆するものである。

A. 研究目的

プリオンの細胞内増殖機構の解明には、生化学的解析と同時に、PrP^{Sc}の細胞内局在を明らかにするための形態学的解析が必要である。PrP 分子のアミロイド原性の高い領域の近傍を認識する抗 PrP モノクローナル抗体(monoclonal antibody, mAb) 132 を用いることで、PrP^{Sc}を再現性良く検出できることから、我々は、mAb 132 を用いてプリオン持続感染細胞における PrP^{Sc}の細胞内局在を詳細に解析した。

B. 研究方法

1) 細胞：

プリオン Chandler 株あるいは 22L 株が持続感染した Neuro2a サブクローン ScN2a-3-Ch あるいは ScN2a-3-22L を用いた。

2) 蛍光抗体法：

細胞は Lab-Tek II CC2 eight-well chamber slide (Nunc) にて培養した。培養上清を除去した後、4% sucrose, 4% paraformaldehyde を含む PBS を用いて 37°C で 10 分間固定した。Paraformaldehyde を 0.1M glycine-PBS を用いて室温で 10 分間中和した後、細胞を 0.1% saponin-PBS で 10 分間処理した。次に、細胞を 5M GdnSCN で 10 分間処理した。一次抗体は 4°C で一晩反応させた。Alexa Fluor 蛍光色素標識二次抗体は、室温で 1 時間以上反応させた。核 DAPI あるいは PI で染色対比した後、標本を ProLong Gold antifade reagent (Invitrogen) で封入した。細胞は蛍光レーザー顕微鏡システム C1 (Nikon) により観察した。

3. small interfering RNA (siRNA) :

35mm dish で培養した細胞に 1ml の OPTI-MEM を加えた。200nM の siRNA を含む OPTI-MEM と 28 μ g/ml の Lipofectoamine 2000 (Invitrogen) を含む OPTI-MEM を等量ずつ混合し、室温で 20 分間静置した。その後、250 μ l の混合液を細胞に添加した。24 時間後に培地を交換した。60 時間後、mRNA 発現解析および WB 解析のためにサンプリングした。

4. 定量 RT-PCR :

Total RNA は TRIzol Reagent (Invitrogen) を用いて回収し、First-Strand Synthesis Kit (GE Healthcare) を用いて cDNA を合成した。mRNA の定量発現解析は TaqMan probe (Applied Biosystems) を用いた定量 RT-PCR 法により行った。

(倫理面への配慮)

プリオン持続感染細胞を用いた実験計画は、北海道大学病原微生物等安全管理委員会にて承認されている。

C. 研究結果

1) PrP^{Sc} の細胞内局在

プリオン感染マウス脳およびプリオン持続感染細胞では、PrP^{Sc} が secondary lysosome に蓄積することが報告されている。そこで、mAb132 により検出される PrP^{Sc} が secondary lysosome に存在するかどうかを調べるため、lysosome のマーカー分子である Lamp1, Lamp2 および酸性オルガネラを染色する LysoTracker と PrP^{Sc} の二重染色を行った。ScN2a-3-22L の PrP^{Sc} は核近傍に集簇して存在するものが多く、それ以外には、細胞質に点在する顆粒状に検出された。Lamp1 と PrP^{Sc} の二重染色を行ったところ、核のごく近傍にある PrP^{Sc} と Lamp1 は共局在しないが、核から少し離れた PrP^{Sc} の一部は Lamp1 と共局在した (図 1)。Lamp2 の染色

では、全ての ScN2a-3-22L が陽性となるのではなく、一部の細胞が Lamp2 陽性となった。Lamp2 陽性の細胞では、小顆粒状に染色された Lamp2 と PrP^{Sc} が一部共局在した (結果は示さず)。LysoTracker と PrP^{Sc} の二重染色では、一部の PrP^{Sc} が LysoTracker により染色された顆粒状部位と共局在した (結果は示さず)。

核近傍の PrP^{Sc} が局在するオルガネラを明らかにするため、ER のマーカー分子である PDI と PrP^{Sc} の二重染色を行ったが、PrP^{Sc} と PDI は共局在しなかった (結果は示さず)。PrP^{Sc} は、cis-medial Golgi のマーカー分子である Giantin と共局在しないが、近接して存在した (図 1)。また、PrP^{Sc} の大部分が TGN のマーカー分子である Tgn38 陽性となる領域のごく近傍に局在し、PrP^{Sc} の一部が Tgn38 と共局在する像が観察された (図 1)。

2) Cholera toxin B subunit (CTxB) との共局在

PrP^{Sc} の多くが TGN のごく近傍に顆粒状に検出されることから、これらの PrP^{Sc} は蛋白質の膜輸送にかかわるオルガネラに局在している可能性が示唆された。そこで、GM1 ガングリオシドに結合して、endosome から TGN へ輸送される CTxB を細胞に添加し、CTxB と PrP^{Sc} の細胞内局在を経時的に調べた。CTxB を 4°C、2 時間細胞に添加した後、37°C で培養を開始した直後では (0min)、CTxB のほとんどが細胞膜表面に存在した。15 分後には、CTxB の一部が細胞内に移行し、核近傍に集まる像が観察された。このとき、一部の細胞では、核近傍で PrP^{Sc} と CTxB が共局在する像が観察された。30 分後には、核周囲の CTxB の蛍光がより顕著になり、CTxB と PrP^{Sc} が共局在する細胞が多く見られた (図 2)。核の近傍に移行した CTxB と PrP^{Sc} が共局在することから、CTxB の細胞内輸送経路上に PrP^{Sc} が存在する可能性が示唆された。

3) Retromer 構成要素と PrP^{Sc} の共局在

Endosome から TGN への逆輸送に関わる一つの因子として retromer が知られている¹⁻³⁾。そこで、retromer の構成要素として知られている Snx1 および Vps35 と PrP^{Sc} の二重染色を行った(図 3)。Snx1 は核の近傍に顆粒状に集簇しており、PrP^{Sc} と Snx1 の一部が核近傍で共局在する像が観察された。Vps35 も、核周囲に顆粒状に認められ、PrP^{Sc} と共局在する像が観察された。調べたオルガネラマーカー分子との共局在の中では、核周囲での retromer の構成要素と PrP^{Sc} の共局在が最も特徴的であった。

4) Vps35 の発現抑制が PrP^{Sc} の産生と細胞内局在に及ぼす影響

Vps35 の発現抑制が PrP^{Sc} の産生に影響を及ぼすかどうかを調べた。陰性対照の siRNA を導入した細胞では、PrP^{Sc} と Vps35 が核近傍で共局在することが確かめられた(図 4)。Vps35 に対する siRNA を導入した ScN2a-3-22L では、約 70% の細胞で Vps35 量の低下が認められた(結果には示さず)。このような細胞では、PrP^{Sc} が核近傍に集簇せず、核から離れた領域に検出され、その蛍光輝度も低下していた(図 4)。

D. 考 察

今回、我々は PrP^{Sc} が核周囲に顆粒状に集簇することに着目した。核近傍に集簇する PrP^{Sc} が Tgn38 のごく近傍に局在すること、PrP^{Sc} が CTxB の細胞内輸送に密接に関連していることから、endosome から TGN への蛋白質の逆輸送経路が PrP^{Sc} の産生に関連している可能性が考えられた。そこで、endosome から TGN への蛋白質の逆輸送に関わる因子の一つである retromer に着目した。Retromer の構成要素である Snx1, Vps26a および Vps35 と PrP^{Sc} が核の近傍で共局在したこと、また、Vps35 の発現抑制に

より PrP^{Sc} 産生量が減少し、核近傍の PrP^{Sc} 集簇像が認められなくなったことから、PrP^{Sc} の産生には、retromer に依存した early/recycling endosome から TGN への蛋白質の逆輸送経路に関わる細胞内微少環境が関与する可能性が示唆された。

E. 結 論

プリオン持続感染 Neuro2a 細胞では、PrP^{Sc} が核周囲の領域に集簇する像が特徴的であった。この領域は TGN のごく近傍であり、CTxB の細胞内輸送経路と密接に関連していた。また、PrP^{Sc} の合成に、endosome から TGN への蛋白質輸送に関わる因子の一つである retromer が関与することを見いだした。

[参考文献]

- 1) Bonifacino J.S., Rojas R. Retrograde transport from endosomes to the trans-Golgi network. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 7 : 568-579, 2006
- 2) Bonifacino J.S., Hurley J.H. Retromer. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 20:427-236, 2008
- 3) Seaman M.N. Recycle your receptors with retromer. *Trends. Cell. Biol.* 15 : 68-75, 2005

F. 健康危険情報

本研究の実施に起因する、健康上の問題を生じた事例は発生していない。

G. 研究発表(2008/4/1~2009/3/31 発表)

1. 論文発表

1. Song C-H, Furuoka H, Kim C-L, Ogino M, Suzuki A, Hasebe R, Horiuchi M. Intraventricular infusion of anti-PrP mAb antagonized PrP^{Sc} accumulation and delayed disease progression in prion-infected mice. *J. Gen. Virol.* 89 :

- 1533-1544, 2008
2. Muramatsu Y, Sakemi Y, Horiuchi M, Ogawa T, Suzuki K, Kanameda M, Tran Thi Hanh TT, Tamura Y. Frequencies of PRNP gene polymorphisms in Vietnamese dairy cattle for potential association with BSE. *Zoonoses Public Health*. 55 : 267-273, 2008
 3. Takada N, Horiuchi M, Sata T, Sawada Y. Evaluation of methods for removing central nervous system tissue contamination from the surface of beef carcasses after splitting. *J. Vet. Med. Sci.* 70 : 1225-1230, 2008
 4. Watanabe K, Tachibana M, Tanaka S, Furuoka H, Horiuchi M, Suzuki H, Watarai M. Heat shock cognate protein 70 contribute Brucella invasion into trophoblast giant cells that cause infectious abortion. *BMC Microbiol.* 8 : 212, 2008
 5. Shindoh R, Kim C-L, Song C-H, Hasebe R, Horiuchi M. The region approximately between amino acids 81 and 137 of proteinase K-resistant PrP^{Sc} is critical for the infectivity of the Chandler prion strain. *J. Virol.* in press.
 6. 堀内基広. プリオンの増殖とその抑制. ウイルス感染症セミナー. 10 : 13-25, 2008
2. 学会発表
1. Song C-H, Honmou O, Furuoka H, Hasebe R, Horiuchi M. Migration of mesenchymal stem cells to brain lesions of prion disease. Prion2008. Madrid, Spain, 2008.9.26-28
 2. Furuoka H, Horiuchi M, Sata T. Pathology in guinea pig infected with bovine spongiform encephalopathy. Prion2008. Madrid, Spain, 2008.9.26-28
 3. Shindo R, Kim C-L, Song C-H, Hasebe R, Horiuchi M. Conformational stability and infectivity of protease-resistant prion protein derived from the Chandler strain. Prion2008. Madrid, Spain, 2008.9.26-28
 4. Yamasaki T, Uryu M, Nakamitsu S, Horiuchi M. Localization of disease-specific prion protein in prion-infected cells. Asian-African Research forum on Emerging and Reemerging Infection. Sapporo, Japan, 2008.12.15-16
 5. Horiuchi M, Yamazaki T. Intracellular Localization of Disease-Specific Prion Protein. Symposium on emerging and reemerging infectious diseases. Tokyo, Japan, 2009.2.17
 6. 宋 昌鉉, 本望 修, 古岡秀文, 長谷部理絵, 堀内基広. プリオン感染マウス脳における骨髄由来間葉系幹細胞の動態. プリオン研究会 2008. 新得, 2008.8.29-30
 7. 山崎剛士, 瓜生匡秀, 中満智史, 堀内基広. 間接蛍光抗体法によるプリオン持続感染細胞に存在するPrP^{Sc}の検出. プリオン研究会 2008. 新得, 2008.8.29-30
 8. 鈴木章夫, 山崎剛士, 堀内基広. PrP-Fc 融合蛋白質とPrP^{Sc}の結合条件の検討. プリオン研究会 2008. 新得, 2008.8.29-30
 9. 堀内基広, 瓜生匡秀, 山崎剛士, 中満智史, 長谷部理絵. マウス神経芽腫細胞 Neuro2a におけるプリオンの細胞間伝播にはエクソソーム以外の因子が関与する. 第 146 回日本獣医学会. 宮崎, 2008.9.24-26
 10. 宋 昌鉉, 長谷部理絵, 堀内基広. プリオン感染マウス脳における骨髄由来間葉系幹細胞の動態. 第 56 回日本ウイルス学会. 岡山, 2008.10.26-28

11. 山崎剛士, 瓜生匡秀, 中満智史, 堀内基広.
間接蛍光抗体法によるプリオン持続感染
細胞に存在する PrP^{Sc} の検出. 第 56 回日
本ウイルス学会. 岡山, 2008.10.26-28
12. 堀内基広, 長谷部理絵. PrP^{Sc} の aa 81 -
aa 137 の領域はプリオンの感染性に必須
である. 第 56 回日本ウイルス学会. 岡山,
2008.10.26-28

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

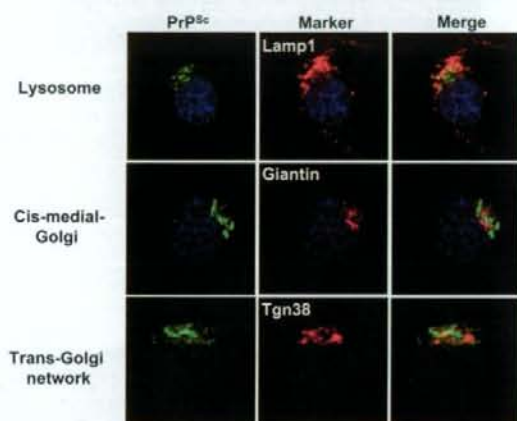


図 1 PrP^{Sc} とオルガネラマーカ分子の蛍光抗体二重染色

プリオン持続感染細胞 ScN2a-3-22L に存在する PrP^{Sc} を mAb 132 で、各種オルガネラマーカ分子を図に示す分子に対する抗体で二重染色した。

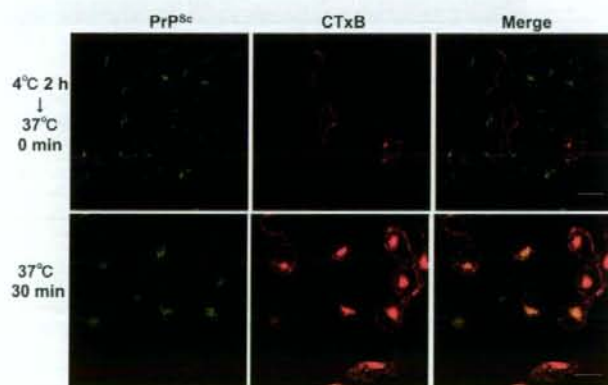


図 2 CTxB と PrP^{Sc} の共局在。

ScN2a-3-22L に CTxB-Alexa Fluor 488 を 4°C 2 時間添加した。37°C で培養を開始した直後 (0min) および 30 分後の PrP^{Sc} と CTxB の局在を調べた。PrP^{Sc} は Alexa Fluor 564 標識二次抗体で染色した。写真は PrP^{Sc} のシグナルを緑で、CTxB のシグナルを赤で表示した。

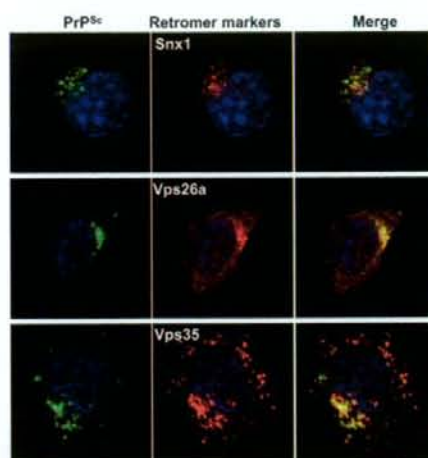


図3 PrP^{Sc}とretromer構成分子の細胞内局在

PrP^{Sc} (mAb 132) と図に示したretromer構成分子に対する抗体を用いて蛍光抗体二重染色を行った。

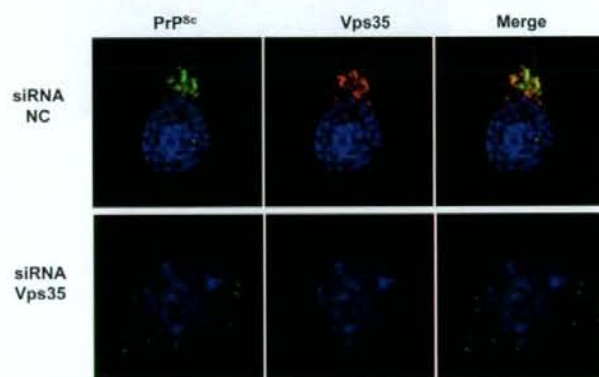


図4 Vps35の発現抑制がPrP^{Sc}の発現および細胞内局在に及ぼす影響

ScN2a-3-22LにVps35に対するsiRNAあるいは陰性対象のsiRNAを導入し、3日後にPrP^{Sc}およびVps35の細胞内局在を蛍光抗体二重染色により調べた。

プリオン蛋白変換に関わる相互作用因子についての解析 その1

研究分担者：照屋 健太 東北大学大学院医学系研究科

研究協力者：堂浦 克美 東北大学大学院医学系研究科

研究協力者：隅田 泰生 鹿児島大学大学院理工学研究科

研究要旨

現在までに様々なスクリーニング法によって抗プリオン活性を持つ化合物が報告・分類されている。本研究では、それらの活性機序やプリオン蛋白質との相互作用の詳細を追跡することを目的としている。本年度はポリアニオン、硫酸化多糖類について取り上げた。硫酸化多糖類の一例としてヘパリンをとりあげた。その異常型プリオン蛋白質産生の抑制にはヘパリン中にある二糖構造が重要な役割をにない、大腸菌リコンビナントプリオン蛋白質を用いた系でその結合を確認した。プリオン蛋白質においてはN末端のドメインがこの結合を担っていた。しかしながら、「結合」のみでは抗プリオン活性はみられず、抗プリオン活性のためには、その二糖構造を有しつつある程度の鎖長が必要であることが明らかになった。これらに基づいて薬剤としての問題点や可能性について考察した。

A. 研究目的

プリオン病の治療・予防薬のスクリーニングが多くラボで実施されている。その結果多種類の抗プリオン活性を有する化合物群がこれまでに報告されてきた¹⁾。現在そのうちの数点が臨床研究へと応用されている。本邦では硫酸多糖類にカテゴライズされるペントサンポリサルフェートを用いた臨床研究が行われているところである²⁾。本報告ではこのような硫酸化多糖類において、抗プリオン活性を担っている部分構造を明らかにする。その後、プリオン蛋白質との相互作用の詳細を調べることによって硫酸化多糖類の有用性について考察する。

B. 研究方法

ヘパリンを2種類の方法で選択的低分子量化し、分子量分画したサンプルを入手した³⁾。ヘパリン及び、その選択的低分子量化したサ

ンプルをプリオン持続感染細胞(ScN2a; RML株感染N2a細胞)で薬剤の活性を評価した。投与量に対するプロテアーゼ耐性プリオン蛋白質(PrPres)の量をウエスタンブロットで計測した。また、抗プリオン活性が見られた低分子量化法のヘパリンサンプルについてはその分子量依存性と抗プリオン活性との関係を同様に評価を行った。その一方で、ヘパリンにおける代表的部分構造の二糖類、グルコースの各々を、チオール基で金表面に固定化した都合三種のセンサーチップ⁴⁾にたいしてリコンビナント・プリオン蛋白質(マウスの配列、PrP(23-231))の結合を評価した。ここでは1:1の化学量論比での結合を仮定して解析し、見た目の解離定数(K_{app})を算出した。

(倫理面への配慮)

ヒトに関する試料を用いた実験は行ってい

ない。

実験動物を使用していない。遺伝子組み換え体は所属する東北大学の取り決めに遵守した。

C. 研究結果

● プリオン持続感染細胞での解析においては以下の結果が得られた。

- (1) 過ヨウ素酸・アルカリ処理して得られたヘパリンにおいては、処理前と同様の抗プリオン活性を示した一方で、ヘパリナーゼで処理したヘパリンでは抗プリオン活性は消失していた。
- (2) 上記の過ヨウ素酸・アルカリ処理したヘパリンサンプルにおいては、低分子量のヘパリンではその抗プリオン活性が減弱し、PrPres の産生抑制には投与量を増加させる必要があった。未処理のヘパリンと同等の抗プリオン活性を得るには 10 糖程度の鎖長が必要であることが示された。
- (3) (1)において抗プリオン活性を担っていると推察される二糖構造そのものでは、抗プリオン活性を示さなかった。

● (1)の結果から抗プリオン活性を担っていると推察される二糖構造を固定したセンサーチップ上での解析で以下の結果が得られた。

- (4) 大腸菌リコンビナント・プリオン蛋白質 PrP(23-231)は、その二糖構造に結合し、その解離定数は 10uM 程度であった。
- (5) 大腸菌リコンビナント・プリオン蛋白質、PrP(23-89)、は(4)の結果と同様に二糖構造に結合した。一方、C 末端側の、PrP(90-230)は有意な結合をしめさなかった。
- (6) プリオン蛋白質と二糖構造との結合は、ヘパリンにより競合的に阻害された。ヘパリン 0.5ug/mL くらいでプリオン蛋白質

質の結合量がおおよそ 1/2 になった。

- (7) ペントサンポリサルフェートは、ヘパリンと同等の競合的阻害を示した。一方、異なる作用機序によって抗プリオン活性を持つと考えられる化合物においては、結合の競合阻害は見られなかった。

D. 考察

本研究においては、プリオン蛋白質とヘパリンの相互作用(結合及び抗プリオン活性)についてしらべた。

ヘパリンにおける抗プリオン活性に必要な構造を同定した。ヘパリンは高分子量化合物であり、そのうえ、構成する糖の種類、鎖長、修飾の程度が多様であるため、抗プリオン活性あるいはプリオン蛋白への結合に必要な部分構造を同定することが困難であり、結合に関する定量的な解析は行われていなかった。この困難を克服するため、ヘパリンの限定的な加水分解反応を利用した。その結果、プリオン持続感染細胞で活性を担っている二糖構造が浮かびあがった。この二糖構造はヘパリンにおける代表的な構造であり、高度に硫酸化を受けている部分であった。高度な硫酸化はペントサンポリサルフェートにも共通した性質である。抗プリオン活性には豊富な硫酸基が関与していることが示唆される。この二糖構造はプリオン蛋白質の大きさに対して十分小さく化学的に同定された構造を持っているので、結合に関する化学量論を 1:1 として定量的な結合試験を行うことが可能になる。

大腸菌リコンビナント・プリオン蛋白質は N 末端のドメインを介してこの二糖構造に結合する。PrP(23-231)はこの二糖構造に 10uM 程度の解離定数で結合することがセンサーチップを用いた系で明らかになった。PrP(23-89)においても同程度の結合が見られた。また、この結合はヘパリンにより競合的阻害をうけたことから、プリオン蛋白質の二糖構造への結合はヘパリンへの結合と同等

な機序に基づくものであることが考えられる。また、ペントサンポリサルフェートに関しても同様な結果が得られた。以上のことからプリオン蛋白質とヘパリンの結合は、ヘパリンの代表的な二糖構造とプリオン蛋白質の N 末端部分との間で起こることが示唆された。プリオン蛋白質の N 末端部分には正電荷のクラスターがあるため、硫酸基との静電的相互作用が重要であることが考えられる。このことはセンサーチップ上での結合が、塩濃度に感受性であったことから支持される。

ヘパリンが抗プリオン活性を発揮するには、二糖構造を含み、ある程度のヘパリンの鎖長が必要である。持続感染細胞の系では 10 糖程度の鎖長が抗プリオン活性に必要であることが示された。また、結果(3)も鎖長が必要であることを示している。ヘパリン一分子に対して複数のプリオン蛋白質が結合しえることが抗プリオン活性に重要であることが示唆される。

以上のことから、ヘパリンの抗プリオン活性には豊富な硫酸化と 10 糖程度の鎖長が必要であることがわかった。このことは現在実験的治療として脳室内投与が行われている硫酸化多糖類において、低分子量化や血液脳関門を通りやすくするような構造変換体は、硫酸化多糖類の抗プリオン活性を減弱させてしまうことを示唆している。したがって、硫酸化多糖の利用においては構造変換による活性の向上よりも、その投与方法や組織到達性や組織内安定性を向上させる戦略が必須である⁵⁾。

E. 結 論

ヘパリンの抗プリオン活性には、10 糖程度の鎖長と、ヘパリナーゼ I に認識・切断を受けるヘパリン中の二糖構造が必須である。

[参考文献]

- 1) Cashman NR, Caughey B. Prion diseases—close to effective therapy?

Nat Rev Drug Discov. 3(10) : 874-884, 2004

- 2) Rainov NG, Tsuboi Y, Krolak-Salmon P, Vighetto A, Doh-Ura K. Experimental treatments for human transmissible spongiform encephalopathies : is there a role for pentosan polysulfate? *Expert Opin Biol Ther.* 7(5) : 713-726, 2007
- 3) Suda Y, Marques D, Kermode JC, Kusumoto S, Sobel M. Structural characterization of heparin's binding domain for human platelets. *Thromb Res.* 69(6) : 501-508, 1993
- 4) Suda Y, Arano A, Fukui Y, Koshida S, Wakao M, Nishimura T, Kusumoto S, Sobel M. Immobilization and clustering of structurally defined oligosaccharides for sugar chips : an improved method for surface plasmon resonance analysis of protein-carbohydrate interactions. *Bioconj Chem.* 17 : 1125-1135, 2006
- 5) Doh-ura K, Ishikawa K, Murakami-Kubo I, Sasaki K, Mohri S, Race R, Iwaki T. Treatment of transmissible spongiform encephalopathy by intraventricular drug infusion in animal models. *J Virol.* 78(10) : 4999-5006, 2004

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表(2008/4/1~2009/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) Teruya K, Kawagoe K, Kimura T, Chen C, Sakasegawa Y, Doh-ura K. Amyloidophilic compounds for prion diseases. *Infectious Disorders- Drug Targets* 2009 *in press.*
- 2) Hizume M, Kobayashi A, Teruya K,

Ohashi H, Ironside JW, Mohri S, Kitamoto T. Human PrP 219K is converted to PrP^{Sc} but shows heterozygous inhibition in vCJD infection. *J Biol Chem.* 284 : 3603-3609, 2009

- 3) Nguyen TH, Lee CY, Teruya K, Ong WY, Doh-ura K, Go ML. Antiprion activity of functionalized 9-aminoacridines related to quinacrine. *Bioorg Med Chem.* 16 : 6737-6746, 2008
- 4) Suzuki SY, Takata M, Teruya K, Shinagawa M, Mohri S, Yokoyama T. Conformational change in hamster scrapie prion protein (PrP²⁷⁻³⁰) associated with proteinase K resistance and prion infectivity. *J Vet Med Sci.* 70 : 159-165, 2008
- 5) 照屋健太, 堂浦克美. 「プリオン」. 山口 惠三・戸塚恭一編, *KEY WORD 感染症* 第二版, 先端医学社, 258-259, 2008

2. 学会発表

- 1) Teruya K, Wakao M, Nishimura T,

Kimura T, Sakasegawa Y, Suda Y, Doh-ura K. Binding of mouse prion protein to heparin. 17th Meeting of Methods in Protein Structure Analysis (2008). Sapporo, Japan, 2008.8.26-29 (ポスター)

- 2) 濱中大一, 川越敬一, 陳 忠正, 照屋健太, 堂浦克美. 抗プリオン活性を有するアミロイド親和性化合物の構造的特徴. プリオン研究会(2008). 北海道上川郡新得町, 2008.8.29-30 (ポスター)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- 1) 堂浦克美, 照屋健太, 隅田泰生. プリオン病治療薬及びそのスクリーニング方法. 特願 P2007-102005, 2007.4.9. 特開 P2008-281557A, 2008.11.20.

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

研究分担者：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

プリオン病に対する新規の治療としてペントサンポリサルフェート(PPS)の脳室内持続投与を本邦で始めて臨床研究を行い、今年度もその治療継続と効果及び副作用の検討を行った。概略として、我々の施設で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CJD 6例(うちMM2型1例)、硬膜移植後医原性CJDが2例、家族性CJD 3例(V180I 2例、GSS 1例)だった。発症から治療開始まで9ヶ月から31ヶ月で、体内埋め込み型微量注入器具および脳室内カテーテルの留置手術脳室内カテーテル留置後、PPS注入を始め、最終維持濃度は $120 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ とした。日常生活動作の指標 modified Rankin Scale では治療前が2-5(平均3.5)で、現在は4-6(平均5.5)と低下しており症状の進行は防げなかった。しかし治療開始後3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。周術期の問題はなく、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。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、致死性の神経難病であり、その有効な治療法は見つかっていない。本邦における、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ウシ海綿状脳症に関連した変異型CJDの発生もいまだその脅威にさらされている。その中で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証明され、プリオン病治療への応用が期待されている。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

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® 20ml reservoir, Flow rate 0.5ml/24h, Codman Inc., Germany)および脳室内カテーテルの留置手術は福岡大学脳神経外科により、福岡大学手術室にて行われた。PPS薬剤注入、薬剤効果の評価、副作用の有無は福岡大学病院神経内科病棟にて原則的に行われたが、一定期間の後、紹介病院にて、その後の経過観察を行った。PPS 脳室内投与用の製剤化と、PPS 髄液濃度測定は福岡大学

薬学部疾患管理学教室で行われた。腹部皮下体内埋め込み型微量注入器具の留置及び脳室内カテーテルの留置手術を行い、手術後1週間はポンプに生食を満たし、頭部CTで出血がないことを確認する。出血等の合併症がなければ術後8日目よりPPS投与を低濃度で開始する。その後、漸増し維持量に到達させる。最終維持濃度は $120\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ として、4週間毎に腹部皮下の微量注入器具中に、経皮的に薬液を交換充填する。

(倫理面の配慮)

本研究の対象患者および患者家族に対して十分に説明を行い、理解を得た上で同意された患者にのみ本治療研究は実施された。本治療研究に対して同意を得る場合は人権保護の立場から慎重に検討し、安全の確保に充分配慮し、対象患者のプライバシー保護には十全の配慮を行われた。同意が得られない場合でも何ら差別なく疾患に対して必要な治療を行うことを原則とし、患者の個人情報については慎重に対応した。

C. 研究結果

この臨床研究の対象は11例のプリオン病患者で、病型の内訳は孤発性CJD 6例(うちMM2型1例)、硬膜移植後医原性CJDが2例、家族性CJD 3例(V180I 2例、GSS 1例)であった。発症から治療開始まで9~31ヶ月で、体内埋め込み型微量注入器具および脳室内カテーテルの留置手術脳室内カテーテル留置後、PPS注入を始め、最終維持濃度は $120\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ とした。日常生活動作の指標modified Rankin Scaleでは治療前が2-5(平均3.5)で、現在は4-6(平均5.5)と低下しており症状の進行は防げなかった。しかし、治療後の生存期間は22ヶ月(4-43)で現在生存している4例に関しては、33.7ヶ月(21-43)と長期生存例が見られた。11例中7例が死亡し、治療から平均15.2ヶ月(4-25)であった。

に対して施行された(表)。この11例において、治療前後の神経学的評価、日常生活動作、同治療に関連した可能性のある副作用を検討した。周術期において大きな問題はなく、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た。硬膜下水腫が神経症状に明らかに影響を及ぼした例は認めない。痙攣発作が1例において認められ、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。

D. 考察

今回の臨床試験継続における治療効果の評価として、経過の早い孤発性CJD 4例、硬膜移植後医原性CJDの2例とGSSの症例は治療開始後も症状の進行は防げなかった。一方で進行の緩徐は孤発性CJD 2例及び家族性CJD(V180I)の2例はこの1年間の状態はほぼ安定しており、生存期間もプリオン病としては長期に及んでいる。この研究に対応する海外の報告は英国のものであるが、特に変異型CJDのPPS治療を受けた2例がこれまでの最長の生存期間を認めていることと合わせて、すべての型ではなく、ある1群のプリオン病に対しては生命予後を改善する可能性が高い。安全面での評価としては、高率に出現する硬膜下水腫以外にはPPS脳室内持続投与法のプロトコールは現在のところ、全例比較的安全に行われている。硬膜下水腫も神経症状を悪化させるものではなく、脳萎縮に伴う脳脊髄液の硬膜下への漏出と考えられる。治療のエントリーは終了しているが今後も長期生存の4例に関して治療、臨床評価は継続しておこなう。今後も欧州で行われた他の治療結果や、英国での変異型CJD中心の症例における治療研究ともあわせて検討を進めてゆきたい。今後も経過の注意観察、解析を継続することで、生命予後改善効果を明らかにすることと、副作用の問題点を解決する方法を検討する必要があると思われる。

この治療はプリオン病患者に対して薬物を脳室内に持続投与する点において、これまでに行われていないはじめての研究である。本研究に使用する PPS は、動物実験において抗プリオン効果が確認されており、他の疾患に使用された歴史を有し、副作用もよく検討されている薬剤であったが、脳室内投与のデータはなかった。このように本研究は、脳血液関門を通過しない薬剤の中枢内への投与方法としての意味と、プリオン病に対する臨床効果の 2 つの意味がある。本研究の成果はプリオン病患者の生命予後改善だけでなく、プリオン蛋白遺伝子変異キャリアーやヒト死体由来硬膜移植歴のある者のような危険因子の保因者がプリオン病を発症するのを予防する医療手段としても発展することが期待される。

我々が福岡大学で作成した PPS 脳室内持続投与方法プロトコールは、長期の治療にも耐えうる安全性が確認されたが、その効果に関して、今後も各種の評価法を用いて検討する必要がある。また PPS の濃度が 120 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ としているが、この濃度で、血算、生化学、凝固検査上の異常は認められない。今後は安全域を考えた治療濃度設定をさらに検討する必要がある。

E. 結 論

CJD は稀な神経難病でその発病率は年間 100 万人に約 1 人であるが、不幸にも本邦では多数のヒト死体由来乾燥硬膜移植後の CJD 患者がいまだ発生しており、潜在的に発症の危険を有する硬膜移植患者も存在する。英国において多発した変異型 CJD の脅威は本邦においても 1 例目の発生が確認されている。このような状況にあり本研究の成果であるプリオン病の治療法の確立は、患者や保因者個人にとっての利益となるだけでなく、新たな医原性疾患発生の可能性を抑えることに寄与するものと考えられる。

[参考文献]

- 1) Rainov NG, Tsuboi Y, Krolak-Salmon P, Vighetto A, Doh-Ura K. Experimental treatments for human transmissible spongiform encephalopathies: is there a role for pentosan polysulfate? *Expert Opin Biol Ther*, 7: 713-726, 2007
- 2) Parry A, Baker I, Stacey R, Wimalaratna S. Long term survival in a patient with variant Creutzfeldt-Jakob disease treated with intraventricular pentosan polysulphate. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 78 : 733-734, 2007
- 3) Whittle IR, Knight RS, Will RG. Unsuccessful intraventricular pentosan polysulphate treatment of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neurochir (Wien)*. 148:677-679, 2006
- 4) Todd NV, Morrow J, Doh-ura K, Dealler S, O'Hare S, Farling P, Duddy M, Rainov NG. Cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate in human variant Creutzfeldt-Jakob disease. *J Infect*. 50(5):394-396, 2005
- 5) Stewart LA, Rydzewska LH, Keogh GF, Knight RS. Systematic review of therapeutic interventions in human prion disease. *Neurology*. 70:1272-1281, 2008
- 6) Bone I, Belton L, Walker AS, Darbyshire J. Intraventricular pentosan polysulphate in human prion diseases: an observational study in the UK. *Eur J Neurol*. 15 : 458-464, 2008

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表(2008/4/1~2009/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) 坪井義夫. 症状の進行はあるが家族性 CJD2 例は 2 年以上生存. *Medical Tribune*. 41(25) : 14, 2008
- 2) 田中美紀, 坪井義夫, 井上貴仁, 山田達夫. プリオン病, SSPE. *Modern Physician*. 28(5) : 729-734, 2008
- 3) 山田達夫, 坪井義夫. 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. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究」班. 平成 19 年度総括・分担研究報告書. 132-135, 2008
- 4) 山田達夫, 坪井義夫. 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. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究」班. 平成 17~19 年度総合研究報告書. 81-86, 2008

2. 学会発表

- 1) 樋口正晃, 坪井義夫, 高野浩一, 藤見恒平, 佐々木健介, 山田達夫. クロイツフェルトヤコブ病患者の MRI と病理所見の比較. 第 49 回日本神経学会総会. 横浜,

2008.5.15-17

- 2) 徳田隆彦, 笠井高士, 石神紀子, 中川正法, 坪井義夫. CJD 患者髄液中では α -synuclein の断片ペプチドが増加している. 第 49 回日本神経学会総会. 横浜, 2008.5.15-17
- 3) 坪井義夫, 山田達夫, 堂浦克美. プリオン病ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法. 第 49 回日本神経病理学会総会シンポジウム II. タワーホール船堀, 2008.5.20-22
- 4) 坪井義夫, 田中美紀, 岡村信行, 志賀裕正, 堂浦克美, 本田裕之, 佐々木健介, 山田達夫. BF-227 を用いたプリオンアミロイドイメージング-Gerstmann-Sträussler-Scheinker 病における画像と病理の対比-Prion Symposium 2008 文部科学省「人獣共通感染症研究クラスター」支援事業. 十勝・北海道サホロリゾート, 2008.8.29-30

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 PPS 脳室内持続投与法を施行した 11 例

No	Age at surgery	Sex	Diagnosis	Date of Surgery	PPS dose (μ g/kg/day)	Survival from the surgery (M)	mRS at Surgery	mRS at Present
1	67	F	sCJD	2004/11/16	120	17*	5	6
2	73	F	sCJD	2005/3/1	120	20*	4	6
3	68	F	sCJD (MM2)	2005/6/2	120	43	3	5
4	64	F	fCJD (V180I)	2005/6/21	120	43	3	4
5	64	F	sCJD	2005/11/14	120	26*	5	6
6	55	M	iCJD	2006/3/13	120	4*	4	6
7	66	M	iCJD	2006/6/12	120	9*	4	6
8	69	F	GSS (P102L)	2006/8/2	120	14*	2	6
9	73	F	fCJD (V180I)	2006/10/15	120	28	2	4
10	68	M	sCJD	2007/3/7	120	18*	2	6
11	39	F	sCJD	2007/4/3	120	21	4	4

*: dead

表 PPS 脳室内持続投与法施行例にみられた副作用

副作用	出現例(出現率)
硬膜下水腫	10 (91%)
硬膜下血腫	2 (18%)
Seizure	1 (9%)
脳質内出血	3 (27%)
出血傾向、凝固異常	0

クロイツフェルト・ヤコブ病サーベイランスの結果

研究分担者：中村 好一 自治医科大学地域医療学センター公衆衛生学部門

研究協力者：定金 敦子 自治医科大学地域医療学センター公衆衛生学部門

研究要旨

1999年4月より実施されているクロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)サーベイランスの結果を用いて、我が国のプリオン病の状況を明らかにした。2008年9月までにCJDサーベイランス委員会でプリオン病と認定された症例は1129例である。患者は1年間に100-130例報告されている。全登録患者の内訳は、弧発型CJD869例(77%)、変異型CJD1例、硬膜移植歴を有するCJD70例(6%)、家族性CJD146例(13%)、分類未決定のCJD3例、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病37例(3%)、致死性家族性不眠症3例であった。また、これまでに確認されている硬膜移植歴を有するCJD患者133例についても検討を行った。対象者の83%が1983-87年に硬膜移植を受け、移植から発病までの期間の平均は143月であった。近年の報告患者数は減少傾向ではあるものの、本研究結果からは今後もdCJDの患者が発生することが予想された。

A. 研究目的

CJDサーベイランスのデータを用いて我が国のプリオン病の疫学像を明らかにする。

B. 研究方法

プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班が設置したサーベイランス委員会によるCJDのサーベイランスが1999年4月から実施されている。サーベイランスの目的はCJDを含むプリオン病の疫学像を明らかにすることと、変異型CJD(vCJD)発生の有無を監視することである。サーベイランスの情報源は1)特定疾患治療研究事業申請の際に提出される臨床調査個人票、2)感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律(感染症法)に基づく届け出、3)東北大学に寄せられるプリオン蛋白遺伝子検索および長崎大学に寄せられる髄液検査の依頼の3経路である。この他にサーベイランス委員や神経難病専門医が察知した症例も調査対象とし

ている。得られた情報について、全国の10ブロックに配置されているサーベイランス委員(神経内科や精神科の専門医)や各都道府県の神経難病専門医が訪問調査を行い、詳細な情報を得ている。なお、全ての調査は患者もしくは家族の同意が得られた場合にのみ実施している。これらの情報をもとにサーベイランス委員会にてプリオン病かどうかの認定、診断の確実度、原因などの評価を行う。また、プリオン病として登録された症例については、死亡例を除き定期的に医療機関に調査票を送付し、その後の状況を調査している。サーベイランスの結果は研究班の報告書、学術雑誌、学会発表などを通して公表されている。以上の方法により2008年9月までに得られた情報1921件(プリオン病以外の神経疾患や重複して報告された例が含まれる)のうち、サーベイランス委員会にてプリオン病と認定された1129例を対象として検討を行った。また、CJDサーベイランス開始以前に実施された