

ribavirin との併用効果が確認できた。今後、動物実験で siRNA の効果を評価し、ドラッグデリバリーの問題を克服することにより新たな治療法への足掛かりになると思われる。

E. 結 論

SSPE ウイルスの N、F、L、P 遺伝子を標的に作製した siRNA は、SSPE-V 感染 VERO/SLAM 細胞でのプラーク形成を抑制した。特に N 遺伝子に対する siRNA が最も有効であり、Ribavirin、IFN α -2b との併用効果も認められた。

[参考文献]

- 1) Fields VIROLOGY 4th edition 1401-1441
- 2) Hosoya M, Mori S, Akemi, et al. Pharmacokinetics and effects of ribavirin following intraventricular administration for treatment of subacute sclerosing panencephalitis. Antimicrob Agents Chemother. 48(12) : 4631-5, 2004
- 3) Seki F, Ono N, Yamaguchi R, Yanagi Y. Efficient isolation of wild strains of canine distemper virus in Vero cells expressing canine SLAM (CD150) and their adaptability to marmoset B95a cells. J Virol. 77(18) : 9943-9950, 2003.9
- 4) Ui-Tei K, Naito Y, Takahashi F, et al. Guidelines for the selection of highly effective siRNA sequences for mammalian and chick RNA interference. Nucleic Acids Res. 32(3) : 936-948, 2004
- 5) Uhlmann V, Martin CM, Sheils O, et al. Potential viral pathogenic mechanism for new variant inflammatory bowel disease. Mol Pathol. 55(2) : 84-90, 2002
- 6) Plumet Sebastien, Gerlier Denis. Optimized SYBR green real-time PCR assay to quantify the absolute copy number of measles virus RNAs using gene specific primers. J Virol Methods. 128(1-2) : 79-87, 2005
- 7) Otaki M, Sada K, Kadoya H, Nagano-Fujii M, Hotta H. Inhibition of measles virus and subacute sclerosing panencephalitis virus by RNA interference. Antiviral Res. 70(3) : 105-111, 2006
- 8) Otaki M, Jiang DP, 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. 51(10) : 985-991, 2007
- 9) DeVincenzo J, Cehelsky JE, Alvarez R, Elbashir S, Harborth J, Toudjarska I, Nechev L, Murugaiah V, Van Vliet A, Vaishnav AK, Meyers R. Evaluation of the safety, tolerability and pharmacokinetics of ALN-RSV01, a novel RNAi antiviral therapeutic directed against respiratory syncytial virus (RSV). Antiviral Res. 77(3) : 225-231, 2008
- 10) Kumar P, Wu H, McBride JL, Jung KE, Kim MH, Davidson BL, Lee SK, Shankar P, Manjunath N. Transvascular delivery of small interfering RNA to the central nervous system. Nature. 5 : 448(7149) : 39-43, 2007
- 11) Song E, Zhu P, Lee SK, et al. Antibody mediated in vivo delivery of small interfering RNAs via cell-surface receptors. Nat Biotechnol. 23(6) :

709-717, 2005

- 12) Turner JJ, Jones S, Fabani MM, et al. RNA targeting with peptide conjugates of oligonucleotides, siRNA and PNA. *Blood Cells Mol Dis.* 38(1) : 1-7, 2007
- 13) White MD, Farmer M, Mirabile I, Brandner S, Collinge J, Mallucci GR. Single treatment with RNAi against prion protein rescues early neuronal dysfunction and prolongs survival in mice with prion disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 22 ; 105(29) : 10238-10243, 2008

F. 健康危険情報

該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hashimoto K, Ishibashi K, Gebretsadik T, Hartert TV, Yamamoto A, Nakayama T, Ohashi K, Sakata H, Kawasaki Y, Katayose M, Sakuma H, Suzuki H, Hosoya M, Peebles RS Jr, Suzutani T. Functional polymorphism of the promoter region of the prostacyclin synthase gene and severity of RSV infection in hospitalized children. *J Med Virol.* 80(11) : 2015-2022, 2008
- 2) Takeda R, Nemoto K, Matsumoto A, Sato M, Hashimoto K, Hosoya M. Epidemiological and virological study of aseptic meningitis in children caused by echovirus type 30 in Fukushima in 2004. *Kansenshogaku Zasshi.* 82(3) : 177-181, 2008
- 3) Kawasaki Y, Isome M, Takano K, Suyama K, Imaizumi T, Matsuura H, Ichii K, Hashimoto K, Hosoya M. IgA nephropathy in a patient with dominant

dystrophic epidermolysis bullosa. *Tohoku J Exp Med.* 214(4) : 297-301, 2008

- 4) Sumikoshi M, Hashimoto K, Kawasaki Y, Sakuma H, Suzutani T, Suzuki H, Hosoya M. Human influenza virus infection and apoptosis induction in human vascular endothelial cells. *J Med Virol.* 80(6) : 1072-1078, 2008
- 5) Kawasaki Y, Imaizumi T, Matsuura H, Ohara S, Takano K, Suyama K, Hashimoto K, Nozawa R, Suzuki H, Hosoya M. Renal expression of alpha-smooth muscle actin and c-Met in children with Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Pediatr Nephrol.* 23(6) : 913-919, 2008
- 6) Hashimoto K, Mori S, Hashimoto Y, Kaneko H, Ishibashi K, Ishioka K, Kawasaki Y, Peebles RS Jr, Munakata M, Hosoya M, Suzutani T. DSCG reduces RSV-induced illness in RSV-infected mice. *J Med Virol.* 81(2) : 354-361, 2009

2. 学会発表

- 1) 橋本浩一, 川崎幸彦, 錫谷達夫, 片寄雅彦, 佐久間弘子, 坂田 宏, 細矢光亮. RSV 感染症入院患児における重症度と PGI2 合成酵素遺伝子多型との関連. 第 82 回日本感染症学会. 島根, 2008.4.17
- 2) 橋本浩一, 川崎幸彦, 陶山和秀, 高野 恵, 細矢光亮. 亜急性硬化性全脳炎(SSPE)に対する siRNA による治療を目指した基礎的研究. 第 111 回日本小児科学会学術集会. 東京都, 2008.4.25
- 3) 橋本浩一, 細矢光亮, 錫谷達夫. RS 感染における SOCS 発現の経時的変化と機能の検討. 第 56 回日本ウイルス学会. 岡山市, 2008.10.26

4) 橋本浩一, 川崎幸彦, 本泉健, 細矢光亮.
 亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) に対する
 siRNA による治療を目指した基礎的研究
 (SSPE ウイルスを用いた *in vitro* での評
 価). 第 40 日本小児感染症学会. 名古屋市,

2008.11.15

H. 知的財産権の出願・登録状況
 特になし。

表 1 リアルタイム PCR のプライマーとプローブ

Primer	Gene	5' to 3' sequence
N forward	N	TCA GTA GAG CGG TTG GAC CC
N reverse	N	GGC CCG GTT TCT CTG TAG CT
F forward	F	TGA CTC GTT CCA GCC ATC AA
F reverse	F	TGG GTC ATT GCA TTA AGT GCA
P forward	P	AATCTGAAAACAGCGATGTGGAT
P reverse	P	TCCCCGGTCAGTGATAGCAT
L forward	L	GTGTGAAAGCGACGAG
L reverse	L	TGTTCCACGAAGATCCT
18S forward	18S	TCAAGAACGAAAGTCGGAGG
18S reverse	18S	GGACATCTAAGGGCATCACA
N probe	N	CAA ACA GAG TCG AGG AGA AGC CAG GGA
F probe	F	CTG CAC GAG GGT AGA GAT CGC AGA ATA CAG
P probe	P	TGGCGAACCTGATACCGAGGGA

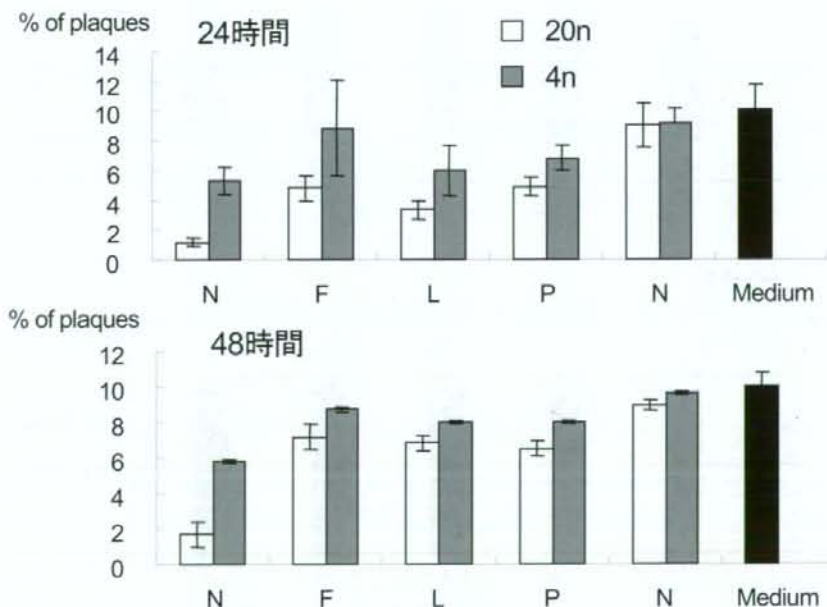


図 1 各 siRNA の SSPE-V 感染 VERO/SLAM 細胞重層後 24, 48 時間におけるプラーク形成抑制効果



図2 Cell-free SSPE-Vにおける si-N の RNA (20nM) の SSPE ウイルス各遺伝子発現への影響 (リアルタイム PCR での検討)

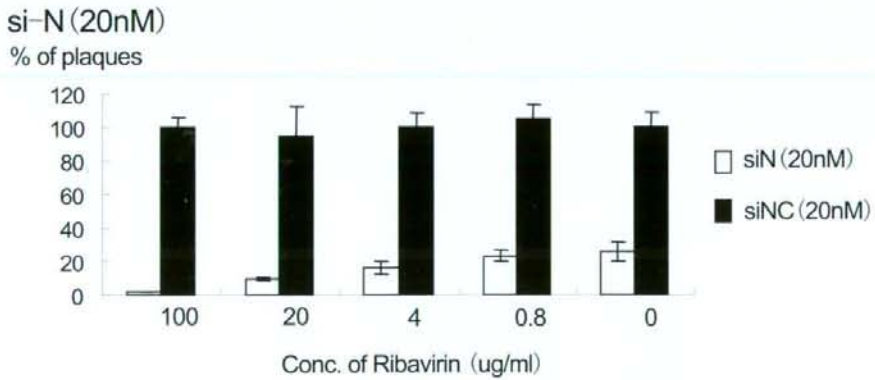
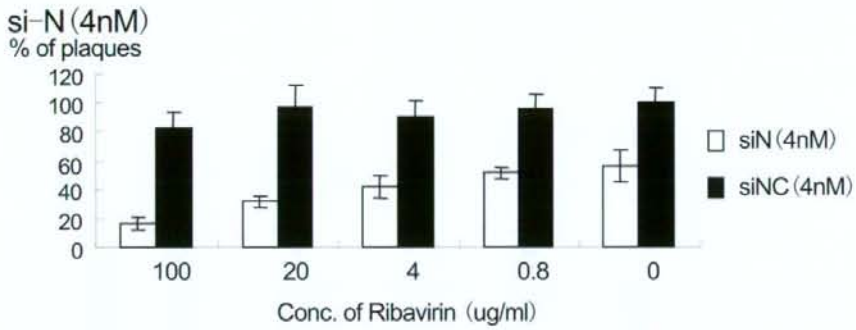


図3 SSPE-V 感染 VERO/SLAM 細胞重層における si-N (4nM, 20nM) と Ribavirin との併用効果

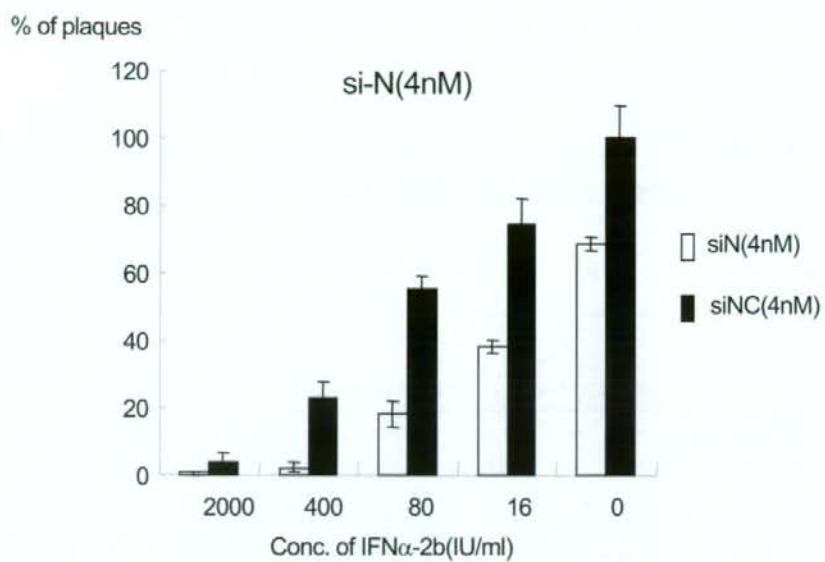


図4 SSPE-V 感染 VERO/SLAM 細胞重層における si-N(4nM) と IFN α -2b との併用効果

亜急性硬化性全脳炎診断における麻疹抗体価検査の比較検討 —麻疹抗体価検査法の標準化に向けて—

研究分担者：市山 高志 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野

研究要旨

亜急性硬化性全脳炎(subacute sclerosing panencephalitis: SSPE)の診断には血清および髄液での麻疹抗体価上昇が必須であるが、麻疹抗体価検査方法は数種類存在する。臨床的に SSPE が疑われたトルコの患児 20 症例の髄液検体について酵素抗体反応(EIA)、中和反応(NT)を行い、各検査法間の相関や診断的意義を検討した。対象患児の髄液麻疹抗体価は EIA で 18 例が >12.8 、2 例が <0.20 だった。EIA で >12.8 だった 18 例は NT で 32 倍 8 例、16 倍 8 例、8 倍 1 例、4 倍 1 例だった。EIA で <0.20 だった 2 例は NT でも <1 倍だった。昨年度の研究と同様に両検査法の結果はよく相関した。感度、定量性、検査の簡便性、国内の統一性、国際的頻用性等の面から EIA が最適と思われるが、単位や希釈の面で問題もあると考えた。

A. 研究目的

SSPE の診断に必須である麻疹抗体価検査法の標準化を目的として昨年度赤血球凝集抑制反応(HI)、酵素抗体反応(EIA)、中和反応(NT)の麻疹抗体価検査法の比較検討を行った。今年度も症例を増やし、国際的に頻用されている EIA と NT に絞って比較検討した。

B. 研究方法

対象はトルコの Hacettepe 大学で SSPE と診断された 20 症例。男児 13 例、女児 7 例。年齢 6~14 歳(平均 9.3 歳)。臨床病期は Jabbour II 期 17 例、III 期 3 例。方法は凍結保存髄液を用い、麻疹抗体価検査(EIA、NT)を SRL に委託実施した。EIA では <0.20 が陰性、 $0.21\sim 0.39$ が疑陽性、 ≤ 0.40 が陽性、NT では <1 倍が陰性、 ≥ 1 倍が陽性である。

(倫理面への配慮)

本研究は凍結保存髄液を用いた研究であり、個人名等の個人情報は保護され、公表はされ

ないことより倫理面への影響はない。

C. 研究結果

髄液麻疹抗体価(表 1)：

EIA では 18/20 例が >12.8 、残り 2 例は <0.20 だった。EIA で >12.8 だった 18 例は NT で 32 倍 8 例、16 倍 8 例、8 倍 1 例、4 倍 1 例だった。EIA で <0.20 だった 2 例は NT でも <1 倍だった。

D. 考察

麻疹抗体価の検査法は HI、EIA、NT、補体結合反応(CF)、受身凝集反応(PA)など種類が多い。サーベイランス研究等行う際には、各医療機関がばらばらの検査法で診断したデータでは、統一した結果が得られにくい。また症例を比較検討するためにも、全国統一の検査法で実施することが望ましい。昨年度は HI、EIA、NT を臨床的 SSPE 患者に実施し、検査法の特徴を検討した。血清、髄液とも 3 検査法の値は比較的相関した。今年度の

髄液でのEIAとNTの比較検討でも昨年度同様に相関がみられた。

麻疹抗体価検査では国際的にEIAとNTが汎用されている(表2)。EIAは高感度であり、検査法も簡便である。また国内の検査会社はほとんどデンカ生研のキットを用いていると思われ、検査会社間の差もないと考える。また最近の文献数も最も多い。一方、本邦の各臨床検査会社はEIAの値をOD値で報告するが、国際的にはIU/mLが使用されている。従って国際的に通用させるにはOD値をIU/mLに換算する必要がある。また本研究のようにSSPE患者の麻疹抗体価は高値であり、測定感度上限を超えることが多いので、希釈測定も必要であろう。

E. 結論

SSPE診断における麻疹抗体価測定では、総合的にEIAとNTが、特にEIAが良いと考えられたが、単位および希釈などの問題点もある。

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) Honda R, Ichiyama T, Maeba S, Sunagawa S, Furukawa S. Male siblings with tibia-metacarpal type of chondrodysplasia punctata without maternal factors. *Brain Dev* 30 : 301-304, 2008
- 2) Asada K, Ichiyama T, Okuda Y, Okino F, Hashimoto K, Nishikawa M, Furukawa S. Cytokine levels in sputum of patients with tracheostomy and profound multiple disabilities. *Cytokine* 42 : 71-76, 2008
- 3) Ichiyama T, Matsushige T, Siba P, Suarkia D, Takasu T, Miki K, Furukawa S. Cerebrospinal fluid levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in subacute sclerosing panencephalitis. *J Infect* 56 : 376-380, 2008
- 4) Shiraishi M, Ichiyama T, Matsushige T, Iwaki T, Iyoda K, Fukuda K, Makata H, Matsubara T, Furukawa S. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hemolytic uremic syndrome with encephalopathy. *J Neuroimmunol* 196 : 147-152, 2008
- 5) Nagao T, Morishima T, Kimura H, Yokota S, Yamashita N, Ichiyama T, Kurihara M, Miyazaki C, Okabe N. Prognostic factors in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J* 27 : 384-389, 2008
- 6) Ichiyama T, Hasegawa M, Hashimoto K, Matsushige T, Hirano R, Furukawa S. Cysteinyl leukotrienes induce macrophage inflammatory protein-1 in human monocytes/macrophages. *Int Arch Allergy Immunol* 148 : 147-153, 2008
- 7) Ichiyama T, Suenaga N, Kajimoto M, Tohyama J, Isumi H, Kubota M, Mori M, Furukawa S. Serum and CSF levels of cytokines in acute encephalopathy following prolonged febrile seizures. *Brain Dev* 30 : 47-52, 2008
- 8) Ichiyama T, Shoji H, Takahashi Y, Matsushige T, Kajimoto M, Inuzuka T, Furukawa S. Cerebrospinal fluid levels of cytokines in non-herpetic acute limbic encephalitis : comparison with herpes simplex encephalitis. *Cytokine* 44 : 149-153, 2008

- 9) Fukano R, Matsubara T, Inoue T, Gondo T, Ichiyama T, Furukawa S. Time lag between the increase of IL-6 with fever and NF- κ B activation in the peripheral blood in inflammatory myofibroblastic tumor. *Cytokine* 44 : 293-297, 2008
- 10) Matsushige T, Ichiyama T, Anlar B, Tohyama J, Nomura K, Yamashita Y, Furukawa S. CSF neurofilament and soluble TNF receptor 1 levels in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neuroimmunol* 205 : 155-159, 2008
- 11) Honda R, Ichiyama T, Sunagawa S, Maeba S, Hasegawa K, Furukawa S. Inhaled corticosteroid therapy reduces cytokine levels in sputum from very preterm infants with chronic lung disease. *Acta Paediatr* 98 : 118-122, 2009
- 12) Tomochika K, Ichiyama T, Shimogori H, Sugahara K, Yamashita H, Furukawa S. Clinical characteristics of respiratory syncytial virus infection-associated acute otitis media. *Pediatr Int* in press
- 13) Ichiyama T, Ito Y, Kubota M, Yamazaki T, Nakamura K, Susumu F. Serum and cerebrospinal fluid levels of cytokines in human herpesvirus-6 encephalopathy. *Brain Dev* in press
- 14) Sunagawa S, Ichiyama T, Honda R, Fukunaga S, Maeba S, Furukawa S. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in perinatal asphyxia. *Brain Dev* in press
- 15) Motoyama M, Ichiyama T, Matsushige T, Kajimoto M, Shiraishi M, Furukawa S. Clinical characteristics of benign convulsions with rotavirus gastroenteritis. *J Child Neurol* in press
- 16) Ichiyama T, Kajimoto M, Matsushige T, Shiraishi M, Suzuki Y, Furukawa S. Mononuclear cell subpopulations in CSF and blood of children with bacterial meningitis. *J Infect* in press
- 17) Hashimoto K, Ichiyama T, Hasegawa M, Hasegawa S, Matsubara T, Furukawa S. Cysteinyl leukotrienes induce monocyte chemoattractant protein-1 in human monocyte/macrophages via maitogen activated protein kinase and NF- κ B pathways. *Int Arch Allergy Immunol* in press
- 18) Kajimoto M, Ichiyama T, Ueno Y, Shiraishi M, Hasegawa M, Furukawa S. Enhancement of activated β 1-integrin expression by prostaglandin E2 via EP receptors in isolated human coronary arterial endothelial cells : implication for the treatment of Kawasaki disease. *Inflamm Res* in press
- 19) Suzuki Y, Ichiyama T, Ohsaki A, Hasegawa S, Shiraishi M, Furukawa S. Anti-inflammatory effect of $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D₃ in human coronary arterial endothelial cells : implication for treatment of Kawasaki disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* in press
- 20) Fukunaga S, Ichiyama T, Maeba S, Okuda M, Nakata M, Sugino N, Furukawa S. MMP-9 and TIMP-1 in the cord blood of premature infants developing BPD. *Pediatr Pulmonol* in press
- 21) Kawahara N, Hasegawa S, Hashimoto K, Matsubara T, Ichiyama T, Furukawa S. Characteristics of asthma attack with long-term management for bronchial asthma. *Pediatr Int* in press

22) Matsushige T, Ichiyama T, Kajimoto M, Okuda M, Fukunaga S, Furukawa S. Serial cerebrospinal fluid neurofilament concentrations in bacterial meningitis. J Neurol Sci in press

2. 学会発表

- 1) Ichiyama T, Makata M, Uchi R, Takekawa T, Matsubara T, Furukawa S. Anti-inflammatory effect of intravenous immunoglobulin in comparison with dexamethasone in vitro : implication for treatment of Kawasaki disease. The 9th International Kawasaki Disease Symposium. Taipei, Taiwan. 2008.4.10-12
- 2) 市山高志, 久保田雅也, 伊藤嘉規, 梶本まどか, 松重武志, 古川 漸. Human herpesvirus-6 脳症における血清および髄液サイトカイン解析. 第 111 回日本小児科学会学術集会. 東京, 2008.4.25-27
- 3) 市山高志, 松重武志, 梶本まどか, 伊予田邦昭, 古川 漸. 溶血性尿毒症症候群 (HUS) 脳症におけるサイトカインおよび MMP-9, TIMP-1 解析. 第 50 回日本小児神経学会. 東京, 2008.5.28-31
- 4) 市山高志, 庄司紘史, 高橋幸利, 松重武志, 梶本まどか, 古川 漸. 非ヘルペス性辺

縁系脳炎の髄液サイトカイン解析: 単純ヘルペス脳炎との比較検討. 第 13 回日本神経感染症学会. 東京, 2008.10.10-11

- 5) 市山高志, 松重武志, 梶本まどか, 友近喜代子, 白石昌弘, 古川 漸. 細菌性髄膜炎における髄液および血液中単核球サブセットの解析. 第 40 回日本小児感染症学会. 名古屋, 2008.11.15-16
- 6) 市山高志. 特別講演. 感染症に伴う小児神経疾患トピックス. 第 113 回日本小児科学会山口地方会. 宇部, 2008.12.7
- 7) 市山高志, 橋本邦生, 長谷川真成, 平野玲司, 長谷川俊史, 古川 漸. シンポジウム. 単球/マクロファージにおける cysteinyl leukotriene による MIP-1 α , MIP-1 β 産生とその制御. 第 45 回日本小児アレルギー学会. 横浜, 2008.12.13-14

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1. SSPE疑い患児の髄液麻疹抗体価

EIA	NT
> 12.8 18例	32倍 8例
	16倍 8例
	8倍 1例
	4倍 1例
	2倍 0例
	1倍 0例
< 0.20 2例	< 1倍 2例

表2. PubMedにおける最近10年の文献数

Measles and hemagglutination inhibition (HI)	27
Measles and enzyme immunoassay (EIA)	249
Measles and neutralization test (NT)	118
Measles and complement fixation (CF)	8
Measles and particle agglutination (PA)	8

2009年1月31日現在

- EIA 長所 定量性が高く、高感度
 測定方法が簡便
 国内のEIAキットはデンカ生研(株)主流
- 短所 国内の検査会社はOD表示だが国際的にはIU/mL表示
 測定感度上限を超える検体が多い

SSPE の発症と関連する PD1 promoter-606G/A 多型の機能解析

研究分担者：楠原 浩一 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野
研究協力者：石崎 義人 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野
研究協力者：由茅 直子 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野
研究協力者：吉良龍太郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野
研究協力者：鳥巢 浩幸 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野
研究協力者：原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野

研究要旨

PD1 遺伝子のプロモーター領域の 1 塩基多型(-606G/A)の 2 つのアリルについて、luciferase assay による機能解析を行った。その結果、SSPE の発症に関連するハプロタイプ(日本人における GCGC とフィリピン人における GCG)を構成する G アリルは、A アリルよりも有意に高いプロモーター活性を有していることが判明した。これらのハプロタイプは、高いプロモーター活性による PD-1 の発現亢進を介して麻疹ウイルス特異的免疫応答を抑制することによって SSPE の発症と関連している可能性が示唆された。

A. 研究目的

昨年度の本班会議において、1) T リンパ球機能の抑制に関与している抑制性副刺激分子である PD-1 の遺伝子(PD1)の 1 塩基多型(SNP)で構成されるハプロタイプのうち、GCGC ハプロタイプと GCG ハプロタイプの頻度がそれぞれ日本人およびフィリピン人の SSPE 患者群で有意に高いこと、2) 末梢血単核球の PD1 mRNA 発現が SSPE 患者群で有意に高いことを報告した。

今回の研究は、これらのハプロタイプに含まれるプロモーター領域の SNP(-606G/A)の G アリルが PD-1 の発現亢進に関与しているかを検討する目的で行った。

B. 研究方法

-606G または -606A のアリルを含む PD1 遺伝子の推定プロモーター部分(-1225 から -65)をそれぞれ PCR により増幅し、firefly luciferase 発現ベクターである

GL4-luc2 に組み込んだ。これらのベクターを Renilla luciferase を発現するコントロールベクター(pRL-TK)とともに HEK293 細胞に co-transfect し、Dual-Glo Luciferase Assay System(Promega, Madison, WI, USA)を用いて、細胞における firefly luciferase 活性を Renilla luciferase 活性に対する比としてもとめた。

(倫理面への配慮)

本研究における遺伝子解析は九州大学遺伝子解析倫理委員会およびフィリピン大学 Research and Development Office 倫理委員会の承認を受けており、被検者あるいは保護者の文書による同意を得て行った。

C. 研究結果

-606G アリルを持つベクターの相対的 luciferase 活性は 7.75 ± 0.93 であり、-606A アリルの活性(4.93 ± 0.38)より有意に高値で

あった (Mann-Whitney U test) (図 1)。したがって、日本人の SSPE 患者に多い GCGC ハプロタイプ、フィリピン人の SSPE 患者に多い GCGC ハプロタイプでは、高い PD1 転写活性をもつことが示された。

次に、SSPE 患者の末梢血単核球における PD1 mRNA の発現を -606G/A 多型の genotype ごとに比較した (図 2)。ホモタイプの症例が少ないためバラつきが大きく、有意差も認めなかったが、G アリルを持つ GG および GA genotype は G アリルを持たない AA genotype よりも平均して高い発現を示す傾向がみられた。

プロモーター領域を検索する web 上のソフトである TSSG による解析を行ったところ、PD1 プロモーターの -606G/A 多型を含む -610 から -606 の領域 (GGCCG) が、転写開始に関与する upstream control element (UCE) の 1 つである UCE.2 に一致していた。したがって、-606G アリルは、-606A アリルよりも UCE としての機能が強く、その結果、高いプロモーター活性をもたらしていると考えられた。また、PD-1 プロモーターの UCE.2 結合領域付近の塩基配列を他種ゲノムとの比較したところ、-606G アリルは種をこえて保存されており、機能的に重要であると推定された。

D. 考 察

PD-1 は抑制性副刺激分子の一つであり、T 細胞、NKT 細胞、B 細胞、単球、樹状細胞に inducible に発現するレセプターである。抗原提示細胞に発現する PD-L1 と PD-L2 をリガンドとして、抑制性のシグナルを伝える機能を有する。HIV や HCV などの慢性ウイルス感染時には、ウイルス特異的 CD8 陽性 T 細胞は、“exhausted” と表現されるような、サイトカイン産生能や増殖能が低下した状態にあり、そのような細胞では PD-1 の発現が亢進しており、そのことが機能低下に関与して

いることが最近報告されている¹⁻⁴⁾。

今回の機能解析の結果、日本人とフィリピン人の 2 つの集団で SSPE 群において頻度が高かった PD1 遺伝子の GCGC ハプロタイプと GCGC ハプロタイプが高いプロモーター活性を有することが明らかになった。これらのハプロタイプを有する個体では、CD8 陽性 T 細胞における PD-1 発現が亢進することにより、麻疹ウイルス特異的 CD8 陽性 T 細胞の機能低下がおこると推測される。その結果、初期の麻疹ウイルスの排除が不十分となり、ウイルスの持続感染がおこりやすくなって、SSPE の発症につながっている可能性が示唆された (図 6)。

E. 結 論

PD1 遺伝子のプロモーター領域の G/A 多型の 2 つのアリルのうち、SSPE の発症に関連するハプロタイプ (GCGC と GCGC) を構成する G アリルは、A アリルよりも有意に高いプロモーター活性を有していた。これらのハプロタイプは、高いプロモーター活性による PD-1 の発現亢進を介して麻疹ウイルス特異的免疫応答を抑制することによって SSPE の発症と関連している可能性が示唆された。

[参考文献]

- 1) Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, et al. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature*. 443 : 350-354, 2006
- 2) Petrovas C, Casazza JP, Brenchley JM, et al. PD-1 is a regulator of virus-specific CD8+ T cell survival in HIV infection. *J Exp Med*. 203 : 2281-2292, 2006
- 3) Penna A, Pilli M, Zerbin A, et al. Dysfunction and functional restoration of HCV-specific CD8 responses in

chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 45 : 588-601, 2007

- 4) Golden-Mason L, Palmer B, Klarquist J, Mengshol JA, Castelblanco N, Rosen HR. Upregulation of PD-1 expression on circulating and intrahepatic hepatitis C virus-specific CD8+ T cells associated with reversible immune dysfunction. *J Virol*. 81 : 9249-9558, 2007

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表(2008/4/1~2009/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) Ishizaki Y, Takemoto M, Kira R, Kusuhara K, Torisu H, Sakai Y, Sanefuji M, Yukaya N, Hara T. Association of toll-like receptor 3 gene polymorphism with subacute sclerosing

panencephalitis. *J Neurovirol*. 14 ; 486-491, 2008

- 2) 楠原浩一, 吉良龍太郎, 鳥巢浩幸, 原 寿郎. SSPE の発症要因 -宿主遺伝要因の解析-. *Neuroinfection*. 13 : 118-124, 2008
 3) 楠原浩一. 亜急性硬化性全脳炎(SSPE)の宿主側遺伝要因. *福岡医学雑誌*. 99 : 159-168, 2008

2. 学会発表

なし

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

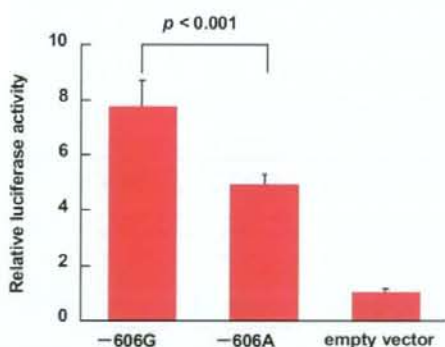


図1 PD1 遺伝子の-606G および-606A アリルのプロモーター活性

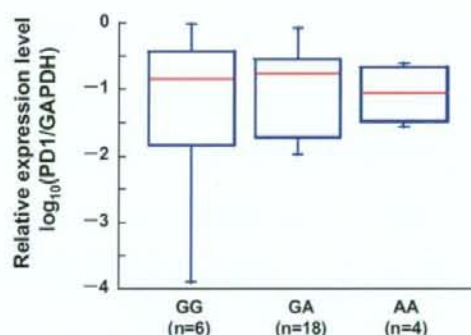


図2 SSPE 患者の末梢血単核球におけるPD1 mRNA の発現

SSPE ウイルスの神経病原性と M、F、H タンパク質の変異の意義について

研究分担者：堀田 博 神戸大学大学院医学研究科微生物学分野

研究要旨

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)の病原体である麻疹ウイルス(MV)変異株(SSPE ウイルスともよぶ)の特徴は感染性ウイルス粒子(ピリオン)を産生しないこと及び神経親和性・神経病原性を有することである。我々はこれまでに、M タンパク質及びF タンパク質の特有の変異がSSPE ウイルスのピリオン非産生性に大きく関与していることを明らかにしてきた。しかし、SSPE ウイルスの神経親和性・神経病原性を規定するウイルス遺伝子の変異は、未だ同定されていない。本研究では、宿主細胞のウイルスレセプターへの吸着に重要な役割を果たしているH タンパク質の変異が、SSPE ウイルスの神経親和性・神経病原性に関与しているか否かについて検証することを目的とした。

まず、神経親和性・神経病原性を簡便に測定できる乳呑マウス脳内接種実験系を確立した。次いで、昨年本研究で作製したM及びFタンパク質の変異を有するウイルス株(MV323-M'/F')に、さらにSSPE ウイルスでしばしばみられるHタンパク質C末端の4アミノ酸付加変異を加えた新規の遺伝子組換えMV(MV323-M'/F'/H')を新たに作製した。MV323-M'/F'/H'は、MV323-M'/F'と同様に、感染性ウイルス粒子はほとんど産生しないが細胞内ウイルス複製能は保持されており、この点ではSSPE ウイルスと類似の性質を有すると考えられた。しかしながら、上記で確立した乳呑マウス脳内接種実験系を用いてMV323-M'/F'/H'の神経親和性・神経病原性について検討したところ、MV323-M'/F'/H'は、SSPE ウイルスと異なって、神経親和性・神経病原性を示さないことがわかった。以上の成績より、SSPE ウイルスの神経親和性・神経病原性は、Hタンパク質のC末端以外の変異あるいはHタンパク質以外のウイルスタンパク質(N、PあるいはLタンパク質等)の変異によって規定されていると考えられた。

A. 研究目的

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)の原因ウイルス(SSPE ウイルス)は麻疹ウイルス(MV)の変異株であり、感染性ウイルス粒子(ピリオン)を産生せず、神経親和性・神経病原性を有するという特徴を有している¹⁾。我々は昨年本研究で、Mタンパク質及びFタンパク質の特有の変異により作出した遺伝子組換えMV(MV323-M'/F')は、細胞内ウイルス複製能は保持したまま感染性ウイルス粒子の産生が約1/1,000以下に低下することを示し、これら2種類のタンパク質の変異がSSPE ウイルスのピリオン非産生性に大きく関与してい

ることを報告した²⁾。しかし、神経親和性・神経病原性を規定する遺伝子変異は明らかに同定されていない。

一般にウイルスの細胞親和性は、標的細胞表面のウイルスレセプターの有無あるいはそれとの結合特性の違い、及びウイルス複製に関与する宿主細胞因子の有無あるいは相互作用の違いにより規定されることが知られている。MV 野外流行株のレセプターはCD150(signaling lymphocyte activation molecule; SLAMともよぶ)である³⁾。CD150/SLAMは樹状細胞、単球/マクロファージ、メモリーT細胞、活性化T細胞、B細胞等の免疫担当細

胞で発現している。しかし、神経細胞、血管内皮細胞、上皮細胞には CD150/SLAM は発現していない¹⁾。一方、Vero 細胞等の上皮系細胞で増殖する実験室継代 MV 株は CD46 とよばれる細胞表面分子をレセプターとして利用する^{1,3)}。MV 野外流行株が CD46 をレセプターとして用いることは稀である。

SSPE ウイルスは神経細胞に感染するが、上述のように神経細胞には CD150/SLAM や CD46 は発現していない。従って、SSPE ウイルスは CD150/SLAM や CD46 以外の未同定のウイルスレセプターを利用していると考えられる。そして、SSPE ウイルスの神経親和性・神経病原性には H タンパク質の変異が重要な働きをしていると考えられている。

一方、MV や SSPE ウイルスの神経病原性を簡便に解析できる小動物実験系として、一部の MV 由来適応変異株を用いたハムスター実験系が知られている。しかし、MV 野生株と SSPE ウイルスの神経病原性を明確に識別できる実験系は未だ確立されていない。

本研究では、まず、MV 野生株と SSPE ウイルスの神経病原性を明確に識別できる小動物実験系を確立し、それを用いて、H タンパク質に変異を導入した遺伝子組換え MV 変異株の神経親和性・神経病原性について検討した。

B. 研究方法

1) マウス脳内接種による神経病原性の検討

1~3 週齢の BALB/cAJcl (CLEA Japan) に MV または SSPE ウイルス感染 B95a 細胞 (0.1 ~ 1,000 PFU/10⁶ cells) を脳内接種し、脳炎の発症を指標として神経親和性・神経病原性の有無について検討した。脳炎発症マウス及び無症状マウスの脳を無菌的に摘出し、細切した後、B95a 細胞と共培養して、脳内のウイルス増殖の有無を調べた。脳組織からのウイルス分離の判定は、融合多核巨細胞の出現及び MV 特異抗体を用いた蛍光抗体法によった。マウス脳組織の病理学的解析は、HE 染色及び

MV 特異抗体を用いた免疫染色によった。

2) 遺伝子組換え MV の作製

遺伝子組換え MV 野外株 (MV-IchB; 九州大学・柳雄介教授より分与)⁴⁾ の M、F、H 遺伝子に変異を導入した遺伝子組換え MV 変異株を作製した。M 遺伝子のみあるいは M と F 遺伝子に変異を導入した遺伝子組換え MV 変異株は既報のものを用いた^{2,5)}。H 遺伝子の変異は、我々が最近分離した SSPE ウイルス (Kobe-1 株)⁶⁾ に見られた変異を参考にして、H タンパク質 C 末端の 4 アミノ酸付加変異を導入した。

3) ウイルス増殖能の測定

感染性遊離ウイルスの測定は B95a 細胞あるいは Vero/SLAM 細胞を用いたブラク法によった。感染細胞内におけるウイルス複製の測定は、ウイルスタンパク質の合成量を特異抗体を用いたウエスタンブロット法により半定量することで行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え MV の作製及び使用は神戸大学遺伝子組換え実験安全委員会の承認及び文部科学大臣の確認を得た。感染動物実験は神戸大学動物実験委員会及び感染動物実験小委員会の承認を得た。すべてのウイルス作製実験及び感染動物実験は、微生物学研究室あるいは動物実験施設感染動物実験室において、バイオセーフティーに関する法令及び指針等に準拠して行った。

C. 研究結果

1) マウス脳内接種による SSPE ウイルス神経病原性の解析法の確立

SSPE-Kobe-1 株 (1,000 PFU) を 1~3 週齢の BALB/cAJcl に脳内接種すると、7 日~14 日の間に、すべてのマウスが死亡した。1 週齢あるいは 2 週齢のマウスに比べると、3 週齢マウスの死亡時期は 2 日程度遅延する傾向

がみられた。一方、麻疹ウイルス臨床分離株 (K52 株)あるいは実験室継代株 (Edmonston 株)は同じ条件下 (1,000PFU)で全く神経病原性を示さなかった。また、それらのウイルスを接種されたマウスの脳から MV は分離されなかった。SSPE ウイルスは、マウス (1 週齢)あたり 100PFU でも神経病原性を示したが、10PFU 以下では脳炎発症はみられなかった。

脳炎発症マウスの脳を B95a 細胞と共培養することにより、100PFU 程度の融合巨細胞の出現が観察され、MV 特異抗体を用いた蛍光抗体法により、SSPE ウイルスと同定された。

SSPE ウイルス感染脳組織の病理学的変化として、リンパ球浸潤を主体とする炎症所見及び神経細胞の変性・脱落と、それに基づくと考えられる脳組織の海綿状変化が認められた。MV 特異抗体を用いた免疫染色により、神経細胞の細胞質に SSPE ウイルス抗原が検出された。

以上の結果より、1~3 週齢の BALB/cAJcl への脳内接種は、SSPE ウイルスの神経親和性・神経病原性を検討する方法として適当であると考えられた。

2) M、F 及び H タンパク質変異遺伝子組換え MV の作製と培養性状の解析

SSPE-Kobe-1 株特有の変異を有する M タンパク質を発現する遺伝子組換え MV (MV323-M')及びそれに加えて F タンパク質 C 末端領域のフレームシフトを有する遺伝子組換え MV (MV323-M'/F')は、親株 (MV323)に比べて、細胞内のウイルス遺伝子複製及びウイルスタンパク質合成は同程度であったが、感染性ウイルス粒子産生は 1/100~1/1,000 に低下していることを確認した。

MV323-M'/F'にさらに H タンパク質の C 末端 4 アミノ酸付加変異を併せ持つ遺伝子組換え MV (MV323-M'/F'/H')を作製した。MV323-M'/F'/H' も、MV323-M' や

MV323-M'/F'と同様に、親株 MV323 と同程度の細胞内ウイルス遺伝子複製能及びウイルスタンパク質合成能を示したが、感染性ウイルス粒子産生は 1/1,000 に減弱していた。

3) M、F 及び H タンパク質変異遺伝子組換え MV の神経病原性の解析

MV323-M'、MV323-M'/F'、MV323-M'/F'/H'をそれぞれ 1,000PFU ずつ 1 週齢のマウスに脳内接種したが、いずれのマウスも脳炎を発症しなかった。陽性対照として用いた SSPE-Kobe-1 株はすべてのマウスに脳炎を発症させた。

D. 考 察

本研究により、SSPE ウイルスの神経親和性・神経病原性を簡便に検証するマウス実験系を確立した。マウスは MV 野生株のレセプターであるヒト CD150/SLAM やヒト CD46 を発現しておらず、SSPE ウイルスはそれらとは異なる未同定のレセプターを利用していることが明らかになった。また、MV 野生株は、この未同定の SSPE ウイルスレセプターに結合できないことも示唆された。乳呑マウス脳内接種を用いた本実験系は、SSPE ウイルスレセプターの同定に有用なツールになると考えられる。

未同定の SSPE ウイルスレセプターとの結合に必要な H タンパク質の変異として、SSPE ウイルスにしばしばみられる C 末端 4 アミノ酸付加変異が考えられた。そこで、この変異を有する遺伝子組換え MV (MV323-M'/F'/H')を作製して検討したが、MV323-M'/F'/H'は神経親和性・神経病原性を獲得しなかった。SSPE-Kobe-1 株の H タンパク質は、この C 末端付加変異の他に 8 カ所の点突然変異を有している。それらの変異のいずれかが神経親和性・神経病原性を規定している可能性が考えられる。現在、それらの変異を有する遺伝子組換え MV を作製して、神経親和性・神経病原性について検討している。

E. 結 論

SSPE ウイルスの神経親和性・神経病原性を簡便に検証するマウス実験系を確立した。この実験系は、SSPE ウイルスレセプターの同定に有用なツールになると考えられる。今回の実験結果より、SSPE ウイルスにしばしばみられる H タンパク質 C 末端付加変異は、少なくともそれ単独では、神経親和性・神経病原性を規定していないと考えられた。H タンパク質にみられるその他の点突然変異が関与している可能性が示唆された。

[参考文献]

- 1) 堀田 博, 姜 大鵬, 長野基子. プリオン病と遅発性ウイルス感染症:原因ウイルスと発症機構. 日本臨床 65 : 1475-1480, 2007
- 2) 堀田 博. SSPE ウイルスの M タンパク質のアミノ酸点変異と F タンパク質 C 末端領域の欠失変異により感染性ウイルス粒子産生能がほぼ完全に消失する. 平成 19 年度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分担研究報告書, 199-202, 2008
- 3) Yanagi Y, Takeda M, Ohno S. Measles virus : cellular receptors, tropism and pathogenesis. J Gen Virol. 87 : 2767-2779, 2006
- 4) Takeda M, Ohno S, Seki F, Hashimoto K, Miyajima N, Takeuchi K, Yanagi Y. Efficient rescue of measles virus from cloned cDNA using SLAM-expressing Chinese hamster ovary cells. Virus Res. 108 : 161-165, 2005
- 5) Jiang DP, Ide Y, Nagano-Fujii M, Shoji I, Hotta H. Single-point mutations of the M protein of a measles virus variant obtained from a patient with subacute sclerosing panencephalitis critically affect solubility and subcellular

localization of the M protein and cell-free virus production. Microbes Infect. (in press)

- 6) 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. 50 : 525-534, 2006

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Jiang DP, Ide Y, Nagano-Fujii M, Shoji I, Hotta H. Single-point mutations of the M protein of a measles virus variant obtained from a patient with subacute sclerosing panencephalitis critically affect solubility and subcellular localization of the M protein and cell-free virus production. Microbes Infect. (in press)

2. 学会発表

- 1) Jiang DP, Ide Y, Nagano-Fujii M, Shoji I, Hotta H. Analysis of the M and F Protein Mutations of a Measles virus variant obtained from a patient with subacute sclerosing panencephalitis. 8th Pacific Congress of Medical Virology. Hong Kong, 2009.2

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

カニクイザル中枢神経における麻疹ウイルス持続感染

研究分担者：網 康至 国立感染症研究所・動物管理室
協力研究者：須崎百合子 国立感染症研究所・動物管理室
協力研究者：小船富美夫 東京大学医科学研究所・実験動物研究施設

研究要旨

麻疹ウイルスの脳内侵入経路を明らかにする目的で、麻疹ウイルスを経鼻接種後、ウイルス血症の極期である感染7日後に、末梢血より単核細胞を分離し、同一個体の視床に接種したカニクイザル2頭について、脳内における麻疹ウイルスの持続感染について検討を行っている。感染後約300週においても、そのうちの1頭においては、高力価の血清中麻疹ウイルス中和抗体、脳脊髄液中の麻疹ウイルス中和抗体が持続して検出されるが、麻疹ウイルス特異的刺激における細胞内 γ IFNの産生T細胞反応は、対照サルとともに検出できなくなった。この個体では、特異的な臨床症状は観察されていないが、他の2頭に認められる体重の増加は認められず、また、脳波では、頭頂から前頭部に周期的な徐波が観察された。

A. 研究目的

麻疹ウイルスの脳内における持続感染がSSPE発症要因のひとつであると考えられている。中枢神経への持続感染成立を目的として、感染自己末梢血単核球を同一個体の視床に接種した2頭のカニクイザルについて長期間にわたる観察を行っている。その1頭においては、抗麻疹ウイルス液性免疫・細胞性免疫の持続的な賦活化を呈し、かつ、脳脊髄液中に中和抗体を有し、中枢神経に持続感染していると考えられる。

昨年度報告したように、この個体では、ウイルス感染細胞抽出蛋白を抗原とするウエスタンブロッティング法により、感染3週後では認められないが、1年後の血中抗体から反応して出現する分子量16~18kDのバンドが観察された。この個体が脳内での麻疹ウイルス持続感染が成立しているものと考え、SSPEの血清学的診断への応用が期待され、そのため、この蛋白を同定することを試みた。

また、引き続き麻疹ウイルス特異的液性・細胞性免疫反応を測定するとともに、持続感染の実態を明らかにすることを目的として、脳波測定を行い、臨床症状の有無について検討を行った。

B. 研究方法

麻疹ウイルスHL-MoBr3株 $10^{6.0}$ TCID₅₀を経鼻接種し、感染7日後に末梢血より分離した単核球 10^6 個を、同一個体の大脳視床に接種した3頭のうち2頭、対照として培養液を接種した2頭のうち1頭、合計3頭のカニクイザルについて臨床症状の観察を行った。また、経時的に末梢血液、脳脊髄液を採材し、抗麻疹ウイルス中和抗体価を測定した。

中和抗体価の測定は、血漿あるいは脳脊髄液を4倍希釈から2倍段階希釈し、攻撃ウイルスには、麻疹ウイルス野外分離株IC-B株、細胞にはB95a細胞を用いて行った。

麻疹ウイルス特異的なT細胞反応は、

Nanan Rらの方法を改良した方法を用いた。採取した末梢血単核球 10^6 個に moi 0.1 で麻疹ウイルス IC-B 株を 37°C 、30 分吸着感染させ、10% FCS RPMI1640 培地中で、 37°C 5% CO_2 存在下で 45 時間培養後、通常の方法で、細胞表面抗原 CD8, CD4, 細胞内 γ IFN を標識抗体で染色し、Flowcytometer (EPICS elite) で測定、リンパ球中におけるそれぞれの細胞比率を winMDIver2.8 で解析した。産生細胞率は、ウイルス未接種 PBMC の同時期間培養における値との差により算出した。

麻疹ウイルス感染細胞抽出タンパクに対する血中抗体の反応性については、IC-B 株感染 B95a 細胞を NP-40 融解緩衝液で抽出したタンパクを抗原とし、5~12% Bis-Tris ポリアクリルアミドゲルにて電気泳動後、ウエスタンブロッティング法により行った。感染血清が反応するタンパクの同定には、麻疹ウイルスの構造タンパク HA、P、N、F、M に対する単クローン抗体、非構造タンパク C および V に対するウサギポリクローナル抗体を用いた。

脳波測定は、キシラジン-塩酸ケタミン麻酔下で、TEAC BA1008 (8 チャンネル生体アンブ) を用い、増幅感度 $20\mu\text{V}/0.5\text{V}$ 、時定数 0.3sec で行い、TEAC es8 (A/D デジタルレコーダー) で記録し解析を行った。

(倫理面への配慮)

本実験は、国立感染症研究所動物実験委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

実験群 2 頭および対照 1 頭の、感染後 300 週までの脳脊髄液中の中和抗体価、血漿中の中和抗体価の推移を図 1 に示した。対照群の 1 頭 (no.4561) および実験群の 1 頭 (no.4564) では、脳脊髄液中に中和抗体価を認めることはなく、血漿中の中和抗体価は、減少傾向あるいは変動傾向を示した。感染細胞を視床に

接種した 1 頭のカニクイザル (no.4565) については、血中中和抗体価は、他の 2 頭に比べ高値でありかつその値を持続的に維持し、脳脊髄液中でも持続的に検出された。

麻疹ウイルス特異的的刺激における CD8 陽性細胞内 γ IFN の産生については、持続感染していると考えられる個体 (no.4565) を含むすべての個体で有為な産生は昨年度と同様に認められなかった。

カニクイザル (no.4565) における血中の抗体が認識する昨年度報告した約 15~18kD のタンパクの性状を明らかにする目的で、低分子タンパクの分離精度を上げるため、泳動緩衝液を MES buffer を用いて泳動後、ウエスタンブロッティング法で解析を行った。本タンパクは、分子量約 5kD であることが分かった。既知のウイルス由来タンパクに対する抗体の反応性と比較したところ、いずれのタンパクとも異なっていた。同時期に麻疹ウイルスを 2 回経鼻感染させた個体には、このタンパクに対して反応する個体は認められなかった。

この個体では、特異的な臨床症状は認められないが、接種時からの体重変化においては、他の個体が上昇するのに対し、体重の増加が認められない (図 2)。また、脳波では、この個体だけに、前頭部から頭頂部に、200~240 μV の周期的な徐波が観察された (図 3)。

D. 考察

カニクイザル (no.4565) は、脳脊髄液中に抗麻疹ウイルス中和抗体価を示し、かつ麻疹ウイルス特異的液性免疫が賦活化されている状態を約 6 年にわたり維持しており、中枢神経内における麻疹ウイルスの持続感染を示唆しているものと考えられた。感染後 5 年で、麻疹ウイルス特異的的刺激に対する γ IFN 産生 T 細胞が認められなくなり、その傾向を維持し、SSPE で報告のあるヒトにおける免疫状態と一致する。

持続感染が疑われる個体 (no.4565) で認め

られた約 5kD の感染細胞由来のタンパクは、既知の抗体とは反応せず、同定できなかった。分子量から考えて、それらの分解産物かも知れない。他の麻疹ウイルス感染サルでは、その産生が認められていないため、脳内持続感染に特異的な抗体産生である可能性を否定できない。タンパクの同定も含めて、あるいは、SSPE 患者血清を用いる等して、さらなる検討が必要であると考えられる。

観察期間を通じて臨床症状も観察されず、発症には至っていない。しかしながら、他の個体と異なり、体重の増加が認められないことから、観察されないものの、何らかの臨床症状を示している可能性がある。加えて、この個体では、脳波でも SSPE の症例でも観察されている周期的な徐波と考えられる、異なった波形が観察されたことから、上記の可能性を示唆するものと考えられる。

これまでの疫学的調査結果から、麻疹罹患から SSPE 発症までに、平均 6 年を要することから、引き続き観察する必要性があるものと考えられる。

E. 結 論

感染自己末梢血単核球の脳内接種したカニクイザルの 1 頭で、感染約 300 週後においても脳脊髄液中に麻疹ウイルス中和抗体が検出され、血漿中には抗麻疹ウイルス中和抗体が持続して検出された。この個体においては、臨床症状は観察されていないが、脳波測定で

周期的な徐波が観察された。

[参考文献]

- 1) Dhib-Jalbut S, Jacobson S, McFarlin DE, McFarland HF. Impaired human leukocyte antigen-restricted measles virus-specific cytotoxic T-cell response in subacute sclerosing panencephalitis. *Ann Neurol.* 25 : 272-280, 1989
- 2) Martinovic Z. Periodic generalized burst of fast waves in subacute sclerosing panencephalitis: Electroencephalograph *Clin Neurophysiol* 63 : 236-238, 1986

F. 健康管理情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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