

り小な調整オッズ比を示した。

2. 複合要因についての調整オッズ比(表2)

初回ワクチン受種かつ麻疹未罹患(1Vac & HadNoM)は1より小なリスクを示した。

3. 選択された8要因についての調整オッズ比(表3)

粗オッズ比の絶対値が大きく、有意差があった8要因を選んでロジスティック回帰を行なったところ、1Vac & HadMが1より小な調整オッズ比を示した。

他の7要因はすべて有意な($p < 0.05$)の調整オッズ比を示さなかった。

AM < 1y、1VAM、 $|M-2V| < 4w$ 、 $|M-1V| > 8w$ の4要因の値は大きく変動し、分散拡大係数の値が大であり、AM < 1yと1VAMの相関係数が0.660***、1VAMと $|M-1V| > 8w$ の相関係数が0.716***、 $|M-1V| > 8w$ と $|M-2V| < 4w$ の相関係数が0.765***であった。

D. 考察

ロジスティック回帰を行なった結果、正のリスクがHadM(OR=6.58)、HadUnknownM(OR=3.36)、HadM/HadUnknownM(OR=5.17)に認められた。負のリスクがHadNoM(OR=0.19)、1Vac&HadNoM(OR=0.15~0.20, 0.23~0.33)に認められた。

AM < 1y、1VAM、 $|M-2V| < 4w$ 、 $|M-1V| > 8w$ の4要因は互いに多重共線関係にあると考えられた。

E. 結論

PNG 東部高地州において麻疹罹患はSSPEの発生リスクであって麻疹罹患不明にもSSPE発生リスクを認めた。ワクチン受種に麻疹予防効果があった場合にSSPE発生予防効果があった。以上をロジスティック回帰で確かめた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 高須俊明, 国分裕司, 西村敏樹, 三木健司, 河西竜太, 駒瀬勝啓, 吉川泰弘. パプアニューギニアの亜急性硬化性全脳炎, 麻疹, および麻疹予防接種—学術調査, 共同研究, および NGO 活動—(その1). 熱帯. 31: 251-258, 1998
- 2) 高須俊明, 国分裕司, 西村敏樹, 三木健司, 河西竜太, 駒瀬勝啓, 吉川泰弘, パプアニューギニアの亜急性硬化性全脳炎, 麻疹, および麻疹予防接種—学術調査, 共同研究, および NGO 活動—(その2). 熱帯 32: 149-161, 1999
- 3) Miki K, Komase K, Mgone CS, Kawanishi R, Iijima M, Mgone JM, Asuo PG, Alpers MP, Takasu T, Mizutani T. Molecular analysis of measles virus genome derived from SSPE and acute measles patients in Papua New Guinea. J Me virol 68: 105-112, 2002
- 4) Mgone CS, Mgone JM, Takasu T, Miki K, Kawanishi R, Asuo PG, Kono J, Komase K, Alpers MP. Trop Med Intern Health 8: 219-227, 2003
- 5) Takasu T, Mgone JM, Mgone CS, Miki K, Komase K, Namae H, Saito Y, Kokubunn Y, Nishimura T, Kawanishi R, Mizutani T, Markus TJ, Kono J, Asuo PG, Alpers MP. Epidemiol Infect 131: 887-898, 2003
- 6) 高須俊明. 神経感染症と国際協力—カラチとゴロカ(パプアニューギニア)のSSPE—. Neuroinfection 13(1), 2009

2. 学会発表

育講演. 東京, 2008.10.10

- 1) Takasu T. A continuing high incidence of subacute sclerosing panencephalitis in the Eastern Highlands of Papua New Guinea. The World Congress of Neurology. Sydney Convention & Exhibition Centre, Sydney, Australia, 2005.11.5-11 (presented on 2008.11.9)
- 2) 高須俊明. 神経感染症と国際協力-カラチとゴロカ(パプアニューギニア)のSSPE-. 第13回日本神経感染症学会教

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 ロジスティック回帰による調整オッズ比
-単純要因について-

単純要因	粗オッズ比	モデル(1) 調整オッズ比	モデル(2) 調整オッズ比	モデル(2) 調整オッズ比
HadM	4.57**	6.58***		
HadUnknownM	3.46*	3.36*		
HadM/HadUnknownM	6.81**			5.17***
HadNoM	0.15**		0.19***	
1Vac	0.19**	1.33	0.37@	
1Unknownvac	6.61***	5.36		
1Unvac	0.96			
1Unvac/1Unknownvac	5.33**			2.64@

これ以降、@、 $p < 0.10$ 、 $P < 0.05$ 、**、 $p < 0.01$ 、***、 $p < 0.001$.

表2 ロジスティック回帰による調整オッズ比

—複合要因について—

複合要因	粗オッズ比	モデル(1) 調整オッズ比	モデル(2) 調整オッズ比	モデル(3) 調整オッズ比
1Vac&HadM	3.10*	Omitted	0.44	
1Vac&HadUnknownM	1.58	Omitted	0.27	
1Vac&HadM/HadUnknownM	2.83*	Omitted		1.72
1Vac&HadNoM	0.15***	0.15***	0.16***	0.20***
1Unknownvac&HadM	8.29*	Omitted	Omitted	
1Unknownvac&HadUnknownM	689**	Omitted	Omitted	
1Unknownvac&HadM/HadUnknownM	8.25***	Omitted		
1Unknownvac&HadNoM	1.96	Omitted	Omitted	
1Unvac&HadM	2.07 ^o	Omitted	Omitted	
1Unvac&HadUnknownM	0.00	Omitted	0.00	
1Unvac&HaM/HadUnknownM	1.94	Omitted		
1Unvac&HadNoM	0.00	Omitted	0.00	
1Unvac/1Unknownvac&HadM	1.06*	Omitted	3.00	
1Unvac/1Unknownvac&HadUnknownM	3.96**	Omitted	2.25	
1Unvac/1Unknownvac&HadM/HadUnknownM	7.24***	Omitted		4.10
1Unvac/1Unknownvac&HadNoM	1.30	Omitted	0.75	2.39

Omitted, because the p-value>0.20.

表3 ロジスティック回帰による調整オッズ比

—選択された8要因について—

要因	粗オッズ比	モデル(1) 調整オッズ比	モデル(2) 調整オッズ比	モデル(3) 調整オッズ比	モデル(4) 調整オッズ比	モデル(5) 調整オッズ比	モデル(6) 調整オッズ比
AM<1y	42.81***	284.41	77.79				
1VAM	26.40**	0.43		50.40			
I M-2V >8w	21.46***	148.4			40.85		
I M-1V <4w	12.28*	0.00				21.48	
DMB92	7.72**	1.15	1.89	2.32	3.00	3.49	4.07
1Unvac/Unknownvac&HadM/HadUnknownM	7.26***	3.08	2.78	2.86	2.69	2.37	2.02
D1VB92	0.37*	0.49	0.46	0.48	0.45	0.41	0.40
1Vac&HadNoM	0.15***	0.33*	0.32*	0.29*	0.28*	0.26**	0.23**

AM<1y, 麻疹罹患1歳未満、1VAM, 麻疹罹患後に初回ワクチン受種、I|M-2V|>8w, 第2回ワクチン受種と麻疹罹患の間隔8週以上、I|M-1V|<4w, 初回ワクチン受種と麻疹罹患の間隔4週未満、DMB92, 麻疹罹患92年以前、D1VB92, 初回ワクチン受種92年以前、1Unvac/1Unknownvac&HadM/HadUnknownM, 初回ワクチン未受種または受種不明かつ麻疹罹患または罹患不明、1Vac&HadNoM, 初回ワクチン受種かつ麻疹未罹患

進行性多巣性白質脳症の発症機序

—JC ウイルス agnoprotein コード領域の核内封入体形成と細胞変性に関わる機能—

研究協力者：宍戸-原 由紀子 杏林大学医学部病理学教室

研究要旨

進行性多巣性白質脳症は JC ウイルス感染による脱髄疾患で、ヒト脳グリア細胞の腫大核には球状または線状のウイルスが封入体を形成している。近年、PML ボディと呼ばれるドット状の核内構造が、JC ウイルス粒子形成の足場となることを報告した。ウイルス粒子形成過程における agnoprotein コード領域の機能を明らかにするため、agnoprotein ATG 翻訳開始コドンを含む 5'領域 135-bp を欠失すると、核内でのカプシド蛋白発現量が上昇し、PML ボディ以外の核内領域でも容易に異所性ウイルス粒子形成が起きることがわかった。PML ボディはウイルス DNA 複製の場としても知られており、PML ボディにおける粒子形成は、感染性を有する正常ウイルス産生に重要である。agnoprotein またはそのコード領域は、カプシド蛋白の発現量や PML ボディでのカプシド蛋白集積に関与し、正常な子ウイルス産生を制御すると考えられた。

A. 研究目的

進行性多巣性白質脳症は、JC ウイルス感染による脱髄疾患である。感染細胞の核内では、PML ボディと呼ばれるドット状の核内構造を足場にウイルス粒子産生が行われる。本研究では、agnoprotein とそのコード領域のウイルス産生に関わる機能を解析した。

B. 研究方法

既に我々は、agnoprotein と 3 種のカプシド蛋白 (VP1, VP2, VP3) をコードする polycistronic vector を作製し、COS-7 細胞核内にウイルス様粒子 (Virus-like particles: VLP) を産生する系を樹立している^{1,2)}。この系を用いて agnoprotein 翻訳開始コドンを含む 5'領域 138-bp を欠失させて VLP を産生し、共焦点顕微鏡、4%パラホルムアルデヒド固定免疫電顕、2.5%グルタルアルデヒド・オスミウム固定電子顕微鏡で解析した。

(倫理面への配慮)

P2 実験室で行われた。

C. 研究結果

JC ウイルス後期 mRNA は polycistronic で、カプシド蛋白は agnoprotein の下流で翻訳の reinitiation により合成される²⁾。Agnoprotein の下流でカプシド蛋白を発現すると、カプシド蛋白 VP1 は PML ボディに集積して VLP を形成した。一方、agnoprotein 翻訳開始コドンを含む 5'領域 135-bp を欠失すると、VP1 発現が上昇し、1 マイクロメートル当たり約 25 個以上の金コロイドを認める細胞では、金コロイドと VLP のびまん性分布が認められた。また PML ボディで VLP が形成された前者の方が細胞変性が顕著で、後者では VLP が核内全体に充満しても細胞形態は保持されていた。

D. 考 察

カプシド蛋白がある一定の密度に達すれば、PML ボディでなくとも核内で異所性の VLP 形成が起こると考えられる。しかしながら、PML ボディではウイルス DNA の複製も行われることから、異所性に粒子形成した場合、ウイルスゲノム DNA の encapsidation が正常に起きない可能性がある。Agnoprotein とそのコード領域は、ウイルスカプシド蛋白の PML ボディへの集積を制御し、ウイルス DNA ゲノムとカプシド蛋白の発現量の均衡を保っていると考えられた。

E. 結 論

JC ウイルスの agnoprotein およびそのコード領域は、PML ボディでの粒子形成の制御に関与している。

[参考文献]

- 1) Shishido Y, Nukizuma S, Mukaigawa J, Morikawa S, Yasui K, Nagashima K. Assembly of JC virus-like particles in COS7 cells. *J. Med. Virol.* 51 : 265-272, 1997
- 2) Shishido-Hara Y, Hara Y, Larson T, Yasui K, Nagashima K, Stoner GL. Analysis of Capsid Formation of Human Polyomavirus JC (Tokyo-1 strain) by a Eukaryotic Expression System: Splicing of Late RNAs, Translation and Nuclear Transport of Major Capsid Protein VP1, and Capsid Assembly. *J. Virol.* 74 : 1840-1850, 2000

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

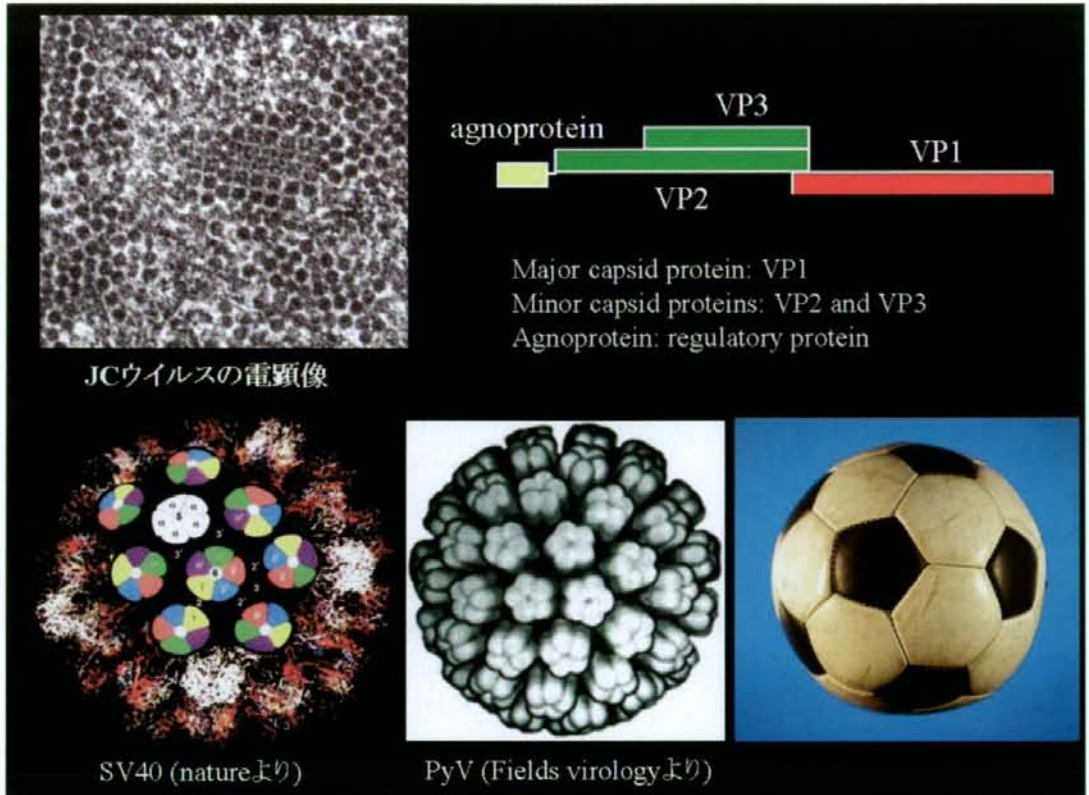
- 1) Shishido-Hara Y, Higuchi K, Ohara S, Duyckaerts C, Hauw J-J, Uchihara T. Promyelocytic Leukemia Nuclear Bodies Provide a Scaffold for Human Polyomavirus JC Replication and Are Disrupted after Development of Viral Inclusions in Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Journal of Neuro pathology and Experimental Neurology.* 67 : 299-308, 2008
- 2) 穴戸-原由紀子. 進行性多巣性白質脳症 (PML). -臨床医のための神経病理-. *Clinical Neuroscience.* 印刷中
- 3) 穴戸-原由紀子. 進行性多巣性白質脳症 (PML) の核内ウイルス封入体形成と細胞変性における PML ボディの役割. -JC ウイルスの分子生物学から, 進行性多巣性白質脳症の人体病理学まで-. *病理と臨床.* 26(9) : 999-1006, 2008
- 4) 穴戸-原由紀子, 内原俊記. What you can see in a single picture? 進行性多巣性脳症 (PML) と PML ボディ 癌化か? 変性か? -ウイルス感染による PML ボディの機能破綻がもたらす細胞の運命-. *Brain Medical.* 20(3) : 207-209, 2008

2. 学会発表

- 1) 穴戸-原由紀子, 内原俊記, 市野瀬志津子. 進行性多巣性白質脳症の核内ドット-ウイルス複製を支持する PML ボディ-. 日本臨床分子形態学会. 福岡, 2008.10

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



左上：進行性多巣性白質脳症のヒト脳組織に見られた JC ウイルスの電顕像。大きさ、形がほぼ均一なウイルスが crystalloid array を示している。

右上：JC ウイルス後期領域のゲノム構造。カプシド蛋白 (VP1, VP2, VP3) が互いに重なり合って、制御蛋白 agnoprotein の下流にコードされている。

左下：SV40 の結晶構造。

中下：polyoma virus の X 線解析。何れのウイルスでも VP1 蛋白が形成する 5 量体がある一定数会合して球状構造を形成している。

右下：サッカーボール。一定数の分子が会合して粒子形成するには、カプシド蛋白の発現が転写、翻訳、スプライシング、核移行などのプロセスで制御されることが推測されている。

PML 脳での JCV 感染細胞における MeCP2 の発現に関する検討

研究協力者: 長嶋 和郎 札幌東徳洲会病院・病理

研究協力者: 白井 紗矢 さくらクリニック

研究協力者: 塚本 哲 市立江別病院・病理

研究協力者: 磯貝 浩 札幌医科大学・動物実験施設

研究協力者: 工藤 伸一 北海道立研究所・疫学部ウイルス科

研究要旨

JC virus(JCV)の large T 領域 coding region に CG 配列が多い点に注目し、Rett syndrome の責任遺伝子として注目を浴びている methyl CpG binding protein 2 (MeCP2)およびその関連蛋白の発現を進行性多巣性白質脳症 (progressive multifocal leukoencephalopathy: PML) の4症例で検討した。JCVの感染を JCV Vp1、Agnoprotein、large T antigen の特異抗体を用いた免疫染色にて確認した。MeCP2の特異抗体を用いた免疫染色で、正常脳および JCV 非感染部位では neuron の核にのみ MeCP2 蛋白が検出された。Glial cell や endothelium では陰性であった。PML 脳では JCV 感染により腫大濃染する核に MeCP2 が強陽性となった。2重染色を用いて MeCP2 と JCV large T とが同じ細胞の核内に存在することが示された。関連蛋白では MBD1 が同様な所見を呈した。MeCP2 が JCV 感染細胞に高発現していることは、JCV の感染とそれに続く脱髄の発症機序に何らかの関係があることが示唆され、この現象を解明していくことが、治療薬開発の新たな切り口を提供するものと考えられた。

A. 研究目的

進行性多巣性白質脳症 (progressive multifocal leukoencephalopathy: PML) の原因ウイルスである JC virus(JCV)は、持続感染している JCV が調節領域に再編成を生じ、脳に感染性を惹起することが考えられている。PML 脳のメチル化異常を調べる replication DNA synthesis (RDS)法で検索した結果 rRNA を始め種々の遺伝子のメチル化が想定された。メチル化遺伝子に結合し転写を抑制する蛋白として知られている methyl CpG binding protein 2(MeCP2)が¹⁾、近年、女兒の発達異常や異常行動を呈する疾患として知られている Rett syndrome の責任遺伝子であることが判明し、注目を浴びて

いる²⁾。そこで PML 脳における methyl CpG binding protein 2 (MeCP2)およびその関連蛋白の発現を検索し、その機能と意義について検討した。

B. 研究方法

1) 免疫染色法:

i) 一次抗体: 抗 JCV Agnoprotein、抗 JCV VP1 抗体は北海道大学医学部分子細胞病理で作成したものをを用いた^{3,4)}。抗 large T 抗体は pAb2(Oncogene 社)を使用し、抗 MeCP2 抗体は Kudo 作成のウサギ polyclonal 抗体を用いた⁵⁾。MBD1、MBD2、MBD3、MBD4 はすべて Santa Cruz Biotechnology 社のものをを用いた。

- ii) 抗原賦活化: 抗原を賦活化するために切片は 10mM sodium citrate pH6.0 に浸した上で圧力釜で 3 分加熱し、その後水によって冷やした。
- iii) 内因性 peroxidase 除去: 0.02% Tween20/PBS で洗浄後 0.3% H₂O₂ で 15 分処理し再度 0.02% Tween20/PBS で洗浄した。
- iv) 免疫反応: 10% goat normal serum に 30 分反応させた後、一次抗体を 4°C overnight で反応させた。反応後 0.02% Tween20/PBS で洗浄した後に Biotinylated goat anti-rabbit IgG で 37°C、30 分間反応させた。0.02% Tween20/PBS で洗浄後、peroxidase-labeled streptavidin で 30 分間反応させ、3, 3'-diaminobenzidine (DAB) で発色させた。
- v) 2 重染色: 1 回目の免疫染色で一次抗体として large T 抗体を反応させ、アルカリフォスファターゼを介して NBT/BCIP で青色に発色させた。次に 2 回目の免疫染色として MeCP2 抗体を反応させ、ストレプトアビジンを介して AEC にて赤色に発色させた。

(倫理面の配慮)

本研究では、進行性多発性白質脳症の病理解剖組織切片を用いた。病理解剖とその検索は日本病理学会が提唱している倫理指針に則って行なわれた。

C. 研究結果

- 1. MeCP2 を用いた免疫染色では、ヒト脳では neuron の核のみが陽性となった (Fig.1)。アストロサイト、オリゴデンドログリア、血管内皮細胞などは全て陰性であった。
- 2. PML 脳 4 例の JCV infected cell の核は JCV Vp1、Agnoprotein、および JCV

- large T protein を発現していた (Fig.2)。
- 3. PML 脳における JCV infected cell の核は MeCP2 抗体で強陽性となった (Fig.3)。
- 4 例全てで同じ結果であった。非感染部位の正常 brain cell は陰性であった。
- 4. JCV large T 抗体を青で発色し、MeCP2 抗体を赤で発色する double 染色で検討すると感染細胞核は両方に共染して濃い赤色を呈し、JCV infected cell の核で MeCP2 の発現していることが明らかとなった。
- 5. MBP-1 は JCV 感染細胞核で強陽性を示したが、MBD-4 は弱陽性を示し、MBD-2 と MBD-3 は陰性であった。MBD2 は neuron で陽性となった。

D. 考察

MeCP2 は methylated gene promoter からの転写を抑制する蛋白で、固体の発生や神経細胞の機能に必須の蛋白である⁶⁾。近年、MeCP2 遺伝子異常が Rett syndrome の責任遺伝子であることが判明している²⁾。正常ヒト脳細胞および PML 脳の非病変部では MeCP2 はニューロンの核にのみ認められた。この所見は最近報告された所見と一致していた⁷⁾。ウイルスとの関連ではある種の Herpes virus で、潜伏感染関連核タンパクと結合していることや⁸⁾、ウイルスの episomal state の維持に関与していることが報告されている⁹⁾。今回、JCV 感染細胞核に MeCP2 が高度に発現していることが判明した。JCV genome に methyl CpG があるためか、JCV 感染細胞で methyl CpG が増加しているためか、その発現亢進の機序は不明である。しかし、MeCP2 の発現亢進が JCV の持続感染に働いている可能性も考えられる。少なくとも MeCP2 の過剰発現は、宿主細胞である oligodendroglia の機能障害を生じて、脱髄を誘発していることが示唆された。

E. 結 論

Methyl CpG に結合し、転写を抑制している MeCP2 蛋白は、正常脳では neuron の核にのみ発現しているが、PML 脳では JCV 感染細胞核に強く発現していることが判明した。現在まで MeCP2 が制御する遺伝子の研究は多数報告されているが、MeCP2 遺伝子そのものの発現を制御する研究はなされていない。JCV 感染が MeCP2 発現を亢進する機構の解明が新たな PML 治療への戦略を提起するものと思われた。

[参考文献]

- 1) Nan X, et al. MeCP2 is a transcriptional repressor with abundant binding sites in genomic chromatin. *Cell* 88: 471-481, 1997
- 2) Amir RE, et al. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet.* 23:185-188, 1999
- 3) Okada Y, et al. Distribution and function of JCV agnoprotein. *J Neuroviro.* 7 : 302-306, 2001
- 4) Okada Y, et al. Expression of JC virus agnoprotein in progressive multifocal leukoencephalopathy brain. *Acta Neuropathol (Berl).* 104: 130-136, 2002
- 5) Kudo S. Methyl-CpG-binding protein MeCP2 represses Sp-1 activated transcription of the human leukosialin gene when the promoter is methylated. *Mol Cell Biol* 18 : 5492-5499, 1998
- 6) Chahrour M, et al. MeCP2, a key contributor to neurological disease, activates and represses transcription. *Science.* 320:1224-1229, 2008
- 7) Darwanto A, et al. MeCP2 expression and promoter methylation of cyclin D1 gene are associated with cyclin D1

expression in developing rat epididymal duct. *Acta Histochem Cytochem* 41 : 135-142, 2008

- 8) Krithivas A, et al. Protein interactions targeting the latency-associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus to cell chromosomes. *J Virol* 76 : 11596-11604, 2002
- 9) Griffiths R, Whitehouse A : Herpesvirus saimiri episomal persistence is maintained via interaction between open reading frame 73 and the cellular chromosome-associated protein MeCP2. *J Virol* 81 : 4021-4032, 2007

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matoba T, et al. An siRNA against JC virus (JCV) agnoprotein inhibits JCV infection in JCV-producing cells inoculated in nude mice. *Neuropathology.* 28:286-294, 2008
- 2) Orba Y, et al. Pharmacological cdk inhibitor R-Roscovitine suppresses JC virus proliferation. *Virology.* 370 : 173-183, 2008
- 3) Wong KT, et al. The distribution of inflammation and virus in human enterovirus 71 encephalomyelitis suggests possible viral spread by neural pathways. *J Neuropathol Exp Neurol.* 67 : 162-169, 2008
- 4) Sasai K, et al. Careful exclusion of non-neoplastic brain components is required for an appropriate evaluation of

O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase status in glioma : relationship between immunohistochemistry and methylation analysis. Am. J. Surg. Pathol. 32 : 1220-1227, 2008

2. 学会発表

特になし。

H. 知的所有権の出願・取得状況
特になし。

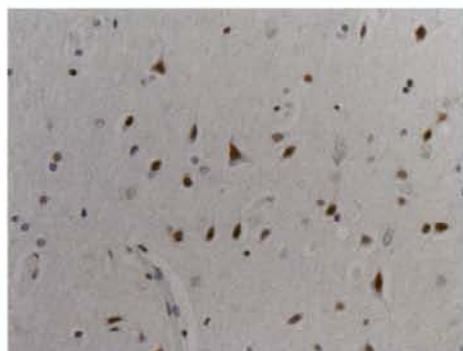


Fig.1

正常ヒト大脳および PML 脳の非脱髄部では MeCP2 はニューロンの核にのみ陽性となり、グリア細胞核や血管内皮細胞では発現が見られなかった。

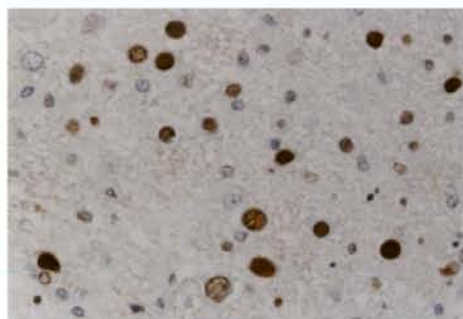


Fig.2

PML 脳の MeCP2 免疫染色を行うと、大脳皮質の neuron の核のみならず、PML の脱髄を生じた部位に陽性細胞が認められた。陽性細胞は JCV 感染により腫大したオリゴデンドログリア核に認められた。

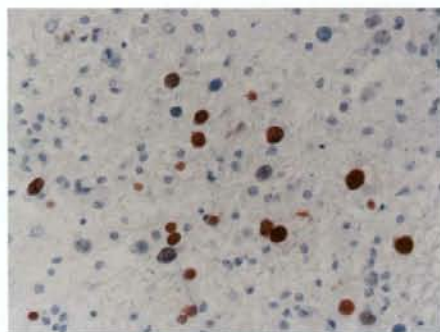


Fig.3

PML 脳の脱髄部では JCV large T 陽性の細胞が多数見られ、腫大した核内には JCV 粒子が充満していることが示された。

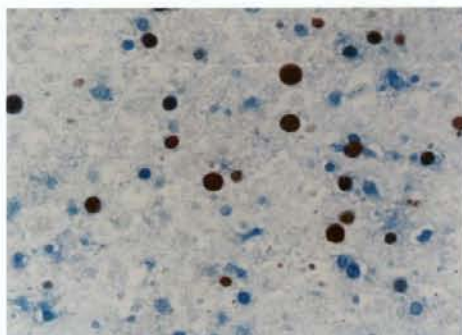


Fig.4

PML 脳の脱髄部に対して JCV large T 蛋白を青色発色し、MeCP2 蛋白を赤色に発色する二重免疫染色を行うと、large T の赤と MeCP2 の青が重染し、濃い赤色を呈していた。この事は JCV 粒子と MeCP2 蛋白とが同じ細胞核に共存していることを示していた。

進行性多巣性白質脳症(PML)診療、1年間の進歩

研究協力者：雪竹 基弘 佐賀大学医学部付属病院神経内科

研究要旨

2008年に報告されたPMLの診断・治療に関する論文を中心に検索した。基礎研究においてはIFNやセロトニン5HT_{2A}受容体拮抗薬に関しては本年も有効である可能性を示す報告があった。また、siRNAなど新規治療につながる可能性のある報告もあった。臨床においてはMRI画像において非典型例(テント下、脳幹病変)の報告が2例あり、診断上留意すべき報告であると考えられた。治療の分野ではcidofovirに関して2つの多数例での報告があった。PML治療の予後改善には否定的ではあるが、価値のある報告であると考えられる。

A. 研究目的

Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML)は稀な疾患ではあるものの、HIV感染者の増加や免疫抑制剤などの適応拡大による汎用、近年のNatalizumabやrituximab投与との関連など日常診療においても留意すべき疾患となる可能性がある。発症機序においても、JCウイルス(JCV)が脱髄を引き起こす機序は完全には解明されていないが、セロトニン5HT_{2A}受容体を介してグリア系細胞に感染する事など、新しい治療に発展する可能性のある知見もある。治療自体はHIV-PMLに対するHAART (highly active anti-retroviral therapy)以外に著明な予後改善が期待できる治療がないのが現状である。抗ウイルス薬などの併用の報告もあるが一定の成績を上げるには至っていない。

本研究では、本研究班が作成した「PMLの診断および治療ガイドライン」の将来における更新を見据え、「より効率の良い治療法の検討/新規治療法への可能性を模索」するため、この1年間に発表されたPMLの診療に関する論文をレビューした。

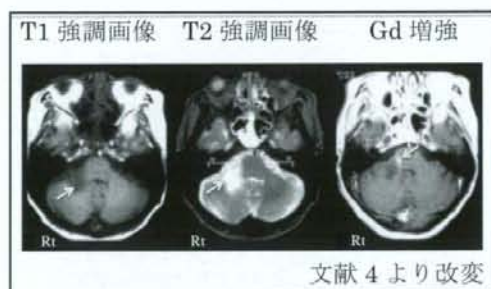
B. 研究方法

PubMedを利用して、2008年に報告されたPMLの診断および治療に関する論文を検索した。

C. 結果

基礎医学的研究では、JCVのヒトグリア細胞への感染と増殖に関して、interferon (IFN) β -1aとセロトニン5HT_{2A}受容体拮抗薬の作用の違いを検討した報告がある。IFN β -1aはJCVのグリア細胞への感染とJCVの増殖を強く抑制し、いくつかの5HT_{2A}セロトニン受容体拮抗薬(ketanserin, ritanserinおよびmianserin)はJCVの感染を抑制するものの、いったん感染したJCVの増殖を抑える効果は乏しい事が示された¹⁾。IFNに関しては、脳内移行の問題はあるものの脳室内投与がPMLに有効である可能性を示唆すると考えられる。また、JCVに感染したSVG-A cells(ヒト胎児グリア細胞由来)をヌードマウスの大脳で培養する系において、siRNAを投与し、感染細胞でのJCV蛋白発現が抑制される事が示された²⁾。新しい治療戦略として注目される報告である。

臨床においては、非典型的な画像所見が2例報告されている。1例は51歳の男性。基礎疾患はSLE。右片麻痺、構音障害、複視および頭部振戦で発症。頭部MRIにて当初は右小脳半球、その後両側小脳半球および脳幹にT2高信号病変を認めている。PMLの診断は小脳からの生検で行われている³⁾。もう1例は59歳の女性。基礎疾患はB細胞リンパ腫。歩行障害、眼振、左錐体路徴候および右上肢振戦で発症。rituximab投与あり。頭部MRIにて当初は右中小脳脚に、その後両側小脳半球および脳幹にT2高信号病変を認めている。PMLの診断は血清および髄液でのPCRにて行われている。この例では軽度のガドリニウム増強効果とmass effectが特徴であったとされている⁴⁾。なお、2007年には脊髄に病変があるHIV-PML症例の報告もある⁵⁾。

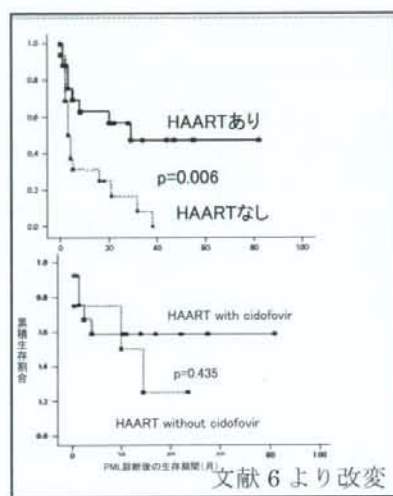


PMLを発症させた可能性のある薬剤としてdapsone(ジアフェニルスルホン)の可能性を論じた1例報告があった。62歳女性、基礎疾患はSLE。PMLの診断は大脳生検の病理学的診断⁶⁾。

治療に関しては、cidofovirに関して多数例の報告があった^{7,8)}。ひとつはHAART+cidofovirでの生存率改善の有無をみた後向き研究である。対象は基礎疾患がAIDSのPML患者70名で、治療としてHAARTのみ、HAART+cidofovir、cidofovirのみ、どちらの治療もなしの4群での検討を行なっている。この報告によると累積生存割合はcidofovir使用の有無にかかわらずHAARTを行なった

群が行なわなかった群に比べ有意に改善された(p=0.006)。一方、HAARTのみの群とHAART+cidofovirの群の比較ではcidofovir追加投与による累積生存割合の改善はみられなかった(p=0.435)⁷⁾。

また、370人の基礎疾患がAIDSのPML患者における報告においてもHAART+cidofovirによる生存率改善や後遺障害の程度に差はなかった⁸⁾。



非HIV-PMLの治療に関しては、3例の報告があった。基礎疾患は2例がリンパ腫、1例が急性リンパ性白血病である。3例ともに抗癌剤による化学療法とrituximab投与がある。PMLの治療としては全例cidofovirを投与されているが、2例は死亡している⁹⁾。

	症例1:68歳男性	症例2:74歳男性	症例3:34歳女性
原疾患	Follicular lymphoma	DLBCL	ALL
治療法	CHOP, B-DHAP, ASCT	R-FVABEC, CIP	Hyper-CVAP, imatinib, High-dose HCT
Rituximab投与からPML発症	3週間	4ヶ月	11ヶ月
PMLの発症徴候	失語症	記憶障害、視覚障害	運動性失語、失読症
PMLへの治療	cidofovir	cidofovir	Cidofovir, DLJ, Acic 療法
転帰	死亡	死亡	生存

文献 9 より改変

D. 考察

新規治療に関しては、IFN やセロトニン5HT2A受容体拮抗薬に関してJCVの感染、

増殖に対して異なった作用機序が示されており、PML の治療戦略を考える上で重要と考える。また、siRNA など新規の治療法につながる可能性のある報告もあった。臨床的には、テント下や脳幹病変で発症した PML の報告があった。HIV 感染者の増加や免疫抑制剤などの適応拡大による汎用が行われている現在においては、多発性硬化症など他の中枢性脱髄性疾患が考えられる症例の鑑別に PML もあげておかなければならないようになるのかもしれない。治療の分野では cidofovir に関しては 2 つの多数例での報告があった。結果としては AIDS に関連した PML 治療の予後改善には否定的なデータではあったが、価値のある報告であると考えられる。

E. 結 論

2008 年に報告された PML の診断・治療に関する論文を検索した。画像上、非典型例の報告があり、診断上有用な報告であると考えられた。新たに有効である治療法の報告はなかったが、本年も IFN やセロトニン 5HT_{2A} 受容体拮抗薬に関しては有効である可能性を示す報告があった。また、siRNA など新規治療につながる可能性のある報告もあった。

[参考文献]

- 1) O'Hara BA, Atwood WJ. Interferon beta1-a and selective anti-5HT_{2A} receptor antagonists inhibit infection of human glial cells by JC virus. *Virus Res.* 132 : 97-103, 2008
- 2) Matoba T, Orba Y, Suzuki T, Makino Y, Shichinohe H, Kuroda S, et al. An siRNA against JC virus (JCV) agnoprotein inhibits JCV infection in JCV-producing cells inoculated in nude mice. *Neuropathology.* 28 : 286-294, 2008
- 3) Svensson PA, Larsson EM. Infratentorial progressive multifocal

leukoencephalopathy (PML) in a patient with SLE (2008 : 4b). *Eur Radiol.* 18 : 1526-1528, 2008

- 4) Bonavita S, Conforti R, Russo A, Sacco R, Tessitore A, Gallo A, et al. Infratentorial progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient treated with fludarabine and rituximab. *Neurol Sci.* 29 : 37-39, 2008
- 5) Bernal-Cano F, Joseph JT, Koralknik IJ. Spinal cord lesions of progressive multifocal leukoencephalopathy in an acquired immunodeficiency syndrome patient. *J Neurovirol.* 13 : 474-476, 2007
- 6) Stahl NI. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a minimally immunosuppressed patient with systemic lupus erythematosus treated with dapsone. *J Rheumatol.* 35 : 725-727, 2008
- 7) Kraemer C, Evers S, Nolting T, Arendt G, Husstedt IW. Cidofovir in combination with HAART and survival in AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurol.* 255 : 526-531, 2008
- 8) De Luca A, Ammassari A, Pezzotti P, Cinque P, Gasnault J, Berenguer J, et al. Cidofovir in addition to antiretroviral treatment is not effective for AIDS-associated progressive multifocal leukoencephalopathy : a multicohort analysis. *AIDS.* 22 : 1759-1767, 2008
- 9) Pelosini M, Focosi D, Rita F, Galimberti S, Caracciolo F, Benedetti E, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy : report of three cases in HIV-negative hematological patients and review of literature. *Ann Hematol.* 87 : 405-412, 2008

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

特になし。

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。

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表

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
Omi K, Hachiya NS, Tanaka M, Tokunaga K, Kaneko K	14-3-3zeta is indispensable for aggregate formation of polyglutamine-expanded huntingtin protein.	Neurosci Lett	431	45-50	2008
Hachiya NS, Kozuka Y, Kaneko K	Mechanical stress and formation of protein aggregates in neurodegenerative disorders.	Med Hypotheses	70	1034-1037	2008
Nishimura T, Sakudo A, Xue G, Ikuta K, Yukawa M, Sugiyama K, Onodera T	Establishment of a new glial cell line from hippocampus of prion protein gene-deficient mice.	Biochem Biophys Res Commun	377	1047-1050	2008
Hosokawa T, Ono F, Tsuchiya K, Sato I, Takeyama N, Ueda S, Zanusso G, Takahashi H, Sata T, Sakudo A, Sugiyama K, Baj A, Toniolo A, Yoshikawa Y, Onodera T	Distinct immunohistochemical localization in Kuru plaques using novel anti-prion protein antibodies.	Microbiol Immunol	52	25-29	2008
Hosokawa T, Tsuchiya K, Sato I, Takeyama N, Ueda S, Tagawa Y, Kimura K, Nakamura I, Wu G, Sakudo A, Casalone C, Mazza M, Caramelli M, Takahashi H, Sata T, Sugiyama K, Baj A, Toniolo A, Onodera T	A monoclonal antibody (1D12) defines novel distribution patterns of prion protein (PrP) as granules in nucleus.	Biochem Biophys Res Commun	366	657-663	2008
Sakudo A, Onodera T, Ikuta K	PrPSc level and incubation time in a transgenic mouse model expressing Borna disease virus phosphoprotein after intracerebral prion infection.	Neurosci Lett	431	81-85	2008
Sakaguchi S	Antagonistic roles of the N-terminal domain of prion protein to doppel.	Prion	2(3)	107-111	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.	J Biol Chem	283(35)	24202-24211	2008
Nasu-Nishimura Y, Taniuchi Y, Nishimura T, Sakudo A, Nakajima K, Ano Y, Sugiyama K, Sakaguchi S, Itohara S, Onodera T	Cellular prion protein prevents brain damage after encephalomyocarditis virus infection in mice.	Arch Virology	153(6)	1007-1012	2008

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Ikeda S, Kobayashi A, Kitamoto T	Thr but Asn of the N-glycosylation sites of PrP is indispensable for its misfolding.	Biochem Biophys Res Commun	369(4)	1195-1198	2008
Kobayashi A, Arima K, Ogawa M, Murata M, Fukuda T, Kitamoto T	Plaque-type deposition of prion protein in the damaged white matter of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease MM1 patients.	Acta Neuropathol	116(5)	561-566	2008
Iwamaru Y, Shimizu Y, Imamura M, Murayama Y, Endo R, Tagawa Y, Ushiki KY, Takenouchi T, Kitani H, Mohri S, Yokoyama T, Okada H	Lactoferrin induces cell surface retention of prion protein and inhibits prion accumulation.	J Neurochemistry	107	636-646	2008
Yokoyama T, Mohri S	Prion diseases and emerging prion diseases.	Curr Medicinal Chemistry	15	912-916	2008
Murakami K, Nishikawa F, Noda K, Yokoyama T, Nishikawa S	Structural analysis of r(GGA)4 found in RNA aptamer for bovine prion protein.	Prion	2	73-80	2008
Yamamoto T, Ushiki Y, Hara S, Hall WW, Tsukagoshi NH, Yokoyama T, Tagawa Y, Sata T, Yamakawa Y, Kinoshita N, Tamura F, Hattori S, Irie S	An advantageous method utilizing new homogenizing device BioMasher and a sensitive ELISA to detect bovine spongiform encephalopathy accurately in brain tissue.	J Virol Methods	149	316-325	2008
Masujin K, Shu Y, Yamakawa Y, Hagiwara K, Sata T, Matsuura Y, Iwamaru Y, Imamura M, Okada H, Mohri S, Yokoyama T	Biological and biochemical characterization of L-type-like bovine spongiform encephalopathy (BSE) detected in Japanese black beef cattle.	Prion	2	123-128	2008
Takenouchi T, Iwamaru Y, Sato M, Yokoyama T, Kitani H	Establishment of an SV40 large T antigen-immortalized bovine brain cell line and its neuronal differentiation by dibutyryl-cyclic AMP.	Cell biology International	33	187-191	2008
Kimura K, Nagaki M, Kakimi K, Saio M, Saeiki T, Okuda Y, Kuwata K, Moriwaki H	Critical role of CD44 in hepatotoxin-mediated liver injury.	J Hepatology	48(6)	952-961	2008

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
Yamaguchi K, Matsumoto T, Kuwata K	Critical Region for Amyloid Fibril Formation of Mouse Prion Protein: Unusual Amyloidogenic Properties of Helix 2 Peptide.	Biochemistry	47(50)	13242-13251	2008
Kato Z, Joel N.H. Stern, Nakamura H, Kuwata K, Kondo N, Jack L. Strominger	Positioning of autoimmune TCR-Ob.2F3 and TCR-Ob.3D1 on the MBP85-99/HLA-DR2 complex.	Proc Natl Acad Sci U. S. A	105(40)	15523-15528	2008
Sengoku R, Saito Y, Ikemura M, Sakiyama Y, Hatsuta H, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Mochizuki H, Inoue K, Murayama S	The incidence and extent of Lewy- body related alpha-synucleinopathy in human aging olfactory bulb.	J Neuropath Exp Neurol	67	1072-1083	2008
Takahashi Y, Seki N, Ishiura H, Mitsui J, Matsukawa T, Kishino A, Onodera O, Aoki M, Shinozawa N, Murayama S, Itoyama Y, Suzuki Y, Sobue G, Nishizawa M, Goto, J, Tsuji S	Development of a high-throughput microarray-based resequencing system for neurological disorders and its application to molecular genetics of amyotrophic lateral sclerosis.	Arch Neurol	67	1072-1083	2008
Ikemura M, Saito Y, Sengoku R, Sakiyama Y, Hatsuta H, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Ito G, Iwatsubo T, Fukuyama M, Murayama S	Lewy body pathology involves cutaneous nerves.	J Neuropath Exp Neurol	67	945-953	2008
Tokumaru AM, Kakamura K, Terada H, Kobayashi O, Kanemaru K, Kato T, Murayama S, Yamakawa M, Mizuo M	Asymptomatic self-limiting diffuse white matter lesions in subacute to chronic stage of herpes simplex encephalitis.	Neuroreport	19	145-150	2008
Hashimoto M, Kawasaki K, Suzuki M, Mitani K, Murayama S, Mishina M, Oda K, Kimura Y, Ishiwata K, Ishii K, Inoue K	Presynaptic and postsynaptic nigrostriatal dopaminergic functions in multiple system atrophy.	Acta Neuropath	115	561-575	2008
Yokota O, Tsuchiya K, Terada S, Ishizu H, Uchikado H, Ikeda M, Oyanagi K, Nakano I, Murayama S, Kuroda S, Akiyama H	Basophilic inclusion body disease and neuronal intermediate filament inclusion disease: a comparative clinicopathological study.	Biochem biophys Res Commun	377	957-961	2008
Takakura Y, Yamaguchi N, Nagasaki T	Bone marrow stroma cells are susceptible to prion infection.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	79	1304-1306	2008
Fujita K, Nakane S, Harada M, Izumi Y, Kaji R	Diffusion tensor imaging in patients with Creutzfeldt-Jakob disease.				

発 表 者 氏 名	論 文 タ イ ト ル 名	発 表 誌 名	巻 号	ペ ー ジ	出 版 年
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
Muramatsu Y, Sakemi Y, Horiuchi M, Ogawa T, Suzuki K, Kanameda M, Tran Thi Hanh TT, Tamura Y, Takada N, Horiuchi M, Sata T, Sawada Y	Frequencies of PRNP gene polymorphisms in Vietnamese dairy cattle for potential association with BSE. Evaluation of methods for removing central nervous system tissue contamination from the surface of beef carcasses after splitting.	Zoonoses Public Health. J Vet Med Sci	55 70	267-273 1225-1230	2008 2008
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
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
Suzuki SY, Takata M, Teruya K, Shinagawa M, Mohri S, Yokoyama T	Conformational change in hamster scrapie prion protein (PrP ²⁷⁻³⁰) associated with proteinase K resistance and prion infectivity.	J Vet Med Sci	70	159-165	2008
Nakamura Y, Uehara R, Watanabe M, Sadakane A, Yamada M, Mizusawa H, Maddox R, Sejvar J, Belay E, Schonberger L	Update: Creutzfeldt-Jakob disease associated with cadaveric dura mater grafts - Japan, 1978-2008.	Morbidity and Mortality Weekly Report	57 (42)	1152-1154	2008
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
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
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