

201024013A

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

平成22年度 総括・分担研究報告書

平成23(2011)年3月

研究代表者 水澤英洋

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

平成22年度 総括・分担研究報告書

**2010 Annual Report of the Research Committee on
Prion disease and Slow Virus Infection,
Researchs on Measures for Intractable Diseases
Health and Labour Sciences Research Grants,
The Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan**

2011年3月
March, 2011

研究代表者 水澤英洋

Chairman: Hidehiro Mizusawa, M.D. Ph.D.

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
脳神経病態学(神経内科学)分野

**Department of Neurology and Neurological Science,
Graduate School, Tokyo Medical and Dental University,
Tokyo, Japan**

平成 22 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名簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	水澤 英洋	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学(神経内科学)	教授
研究分担者	金子 清俊	東京医科大学神経生理学講座	主任教授
	作道 章一	琉球大学医学部保健学科生体代謝学	准教授
	坂口 末廣	徳島大学疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門	教授
	毛利 資郎	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所プリオン病研究センター	プリオン病研究センター長
	竹内 敦子	東北大学大学院医学系研究科病態神経学分野	助教
	横山 隆	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所プリオン病研究センター	プリオン病研究チーム長
	田中 元雅	独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター田中研究ユニット	ユニットリーダー
	桑田 一夫	岐阜大学人獣感染防御研究センター	教授/センター長
	松田 治男	広島大学大学院生物圏科学研究科生物機能開発学専攻分子生命開発学講座(免疫生物学)	特任教授
	新 竜一郎	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学講座感染分子解析学分野	テニュアトラック助教
	堀内 基広	北海道大学大学院獣医学研究科応用獣医科学講座獣医衛生学教室	教授
	堂浦 克美	東北大学大学院医学系研究科神経化学分野	教授
	佐々木真理	岩手医科大学先端医療研究センター超高磁場 MRI 診断・病態研究部門	教授
	黒岩 義之	横浜市立大学大学院医学研究科神経内科	教授
	岩崎 靖	小山田記念温泉病院神経内科	部長
	湯浅 龍彦	医療法人社団木下会鎌ヶ谷総合病院千葉神経難病医療センター難病脳内科	センター長
	山田 達夫	福岡大学医学部神経内科学	教授
	山田 正仁	金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学(神経内科学)	教授
	三條 伸夫	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学(神経内科学)	助教
	細矢 光亮	福島県立医科大学医学部小児科学講座	教授
	市山 高志	山口大学大学院医学系研究科小児科学分野	教授
	楠原 浩一	産業医科大学小児科学講座	教授
	堀田 博	神戸大学大学院医学研究科微生物学分野	教授
	網 康至	国立感染症研究所村山庁舎動物管理室	主任研究官
柳 雄介	九州大学大学院医学研究院ウイルス学分野	教授	
岡 明	杏林大学医学部小児科学	教授	
澤 洋文	北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター分子病態・診断部門	教授	
西條 政幸	国立感染症研究所ウイルス第一部第三室	室長	
岸田 修二	都立駒込病院脳神経内科	部長	

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究協力者	佐多徹太郎	国立感染症研究所感染病理部	部長
	高須 俊明	医療法人崇徳会長岡西病院神経内科	顧問(非常勤)
	大塚 頌子	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科発達神経病態学	教授
	多田 有希	国立感染症研究所感染症情報センター	室長
	飯沼 一字	石巻赤十字病院	院長
	野村 恵子	熊本大学医学部附属病院発達小児科	助教
	愛波 秀男	静岡県立こども病院指導相談室兼神経科	室長兼医長
	鈴木 保宏	大阪府立母子保健総合医療センター小児神経科	主任部長
	原 由紀子	杏林大学医学部病理学教室	助教
	長嶋 和郎	札幌東徳洲会病院病理部	部長
	雪竹 基弘	佐賀大学医学部内科(神経内科)	講師
	奴久妻聡一	神戸市環境保健研究所微生物部	副部長
	高尾 昌樹	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター	専門研究部長
	古賀 雄一	大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻物質生命工学講座	助教
顧問	立石 潤	老人保健施設春風	医師
事務局	三條 伸夫	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学(神経内科学) 〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45 TEL 03-5803-5234 FAX 03-5803-0169 e-mail n-sanjo.nuro@tmd.ac.jp	助教
経理事務担当者	増田 晴彦	東京医科歯科大学学術国際部研究推進課 TEL 03-5803-5872 FAX 03-5803-0179 e-mail haruhiko.adm@cmn.tmd.ac.jp	

目 次

I. 総括研究報告	1
水澤 英洋 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学)	
II. 平成 22 年度 研究報告会プログラム	23
III. 分担研究報告	
1. 正常型および異常型プリオン蛋白質の細胞内輸送と生理的分解酵素の同定	27
金子 清俊 (東京医科大学)	
2. プリオン病における酸化ストレス関与に関する研究	29
作道 章一 (琉球大学医学部保健学科生体代謝)	
3. プリオン蛋白の過剰発現と細胞死	32
坂口 末廣 (徳島大学疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門)	
4. ヒト化マウスに対する BSE の伝達試験	36
毛利 資郎 ((独)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所プリオン病研究センター)	
5. リコンビナント Pr ^{PC} を用いたヒトプリオンの高効率な増幅	39
竹内 敦子 (東北大学大学院医学系研究科 病態神経学分野)	
6. 培養細胞におけるプリオン感染に関する研究	42
横山 隆 (動物衛生研究所 プリオン病研究センター)	
7. 酵母を用いた異種間プリオン感染の分子機構解明	45
田中 元雅 (独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター)	
8. プリオン立体構造変換初期過程の解析	47
桑田 一夫 (岐阜大学人獣感染防御研究センター)	
9. 髄液 FABP 検査系の信頼性の再確認	50
松田 治男 (広島大学大学院生物圏科学研究科)	
10. Real-time QUIC 法 (QUaking-Induced Conversion) による クロイツフェルトヤコブ病患者由来髄液中の Pr ^{PSc} の検出	53
新 竜一郎 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 感染分子解析学分野)	

11. クラスリン依存性エンドサイトーシス阻害剤処理による PrP ^{Sc} 細胞内局在の変化	56
堀内 基広 (北海道大学大学院獣医学研究科獣医衛生学教室)	
12. プリオン病の治療予防開発に関する基礎研究	60
堂浦 克美 (東北大学大学院医学系研究科)	
13. CJD 早期診断における拡散強調画像の機種間差異: ADC 値の検討	64
佐々木真理 (岩手医科大学先端医療研究センター)	
14. V180I 変異遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病患者での FDG-PET の検討	67
黒岩 義之 (横浜市立大学大学院医学研究科神経内科)	
15. プリオン蛋白遺伝子コドン 180 変異を伴うクロイツフェルト・ヤコブ病の臨床病理学的特徴	69
岩崎 靖 (小山田記念温泉病院 神経内科)	
16. Creutzfeldt-Jakob 病における抗グルタミン酸受容体抗体 — 症状との関連と早期診断への展望 —	72
湯浅 龍彦 (鎌ヶ谷総合病院千葉神経難病医療センター・難病脳内科)	
17. 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	75
山田 達夫 (福岡大学医学部神経内科学)	
18. CJD サーベイランスにおけるプリオン病発症と加齢の関連についての検討	78
山田 正仁 (金沢大学大学院医学系研究科脳老化・ 神経病態学(神経内科))	
19. わが国の遺伝性プリオン病における髄液所見と臨床経過・病理所見の 関連性について	83
三條 伸夫 (東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科))	
20. ヌードマウス脳内に持続感染した麻疹ウイルスの検討	89
細矢 光亮 (福島県立医科大学・医学部・小児科学講座)	
21. 亜急性硬化性全脳炎におけるインターフェロン濃度の検討	92
市山 高志 (山口大学大学院医学系研究科小児科学分野)	

22. SSPE に対するリバビリン脳室内注入療法 ーフィリピンの単一施設における治療成績ー……………	96
楠原 浩一 (産業医科大学小児科)	
23. 亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) マウスモデルを用いた神経病原性の研究 …	102
堀田 博 (神戸大学大学院医学研究科微生物学分野)	
24. カニクイザルを用いた SSPE 動物モデルの開発 ……………	107
網 康至 (国立感染症研究所 動物管理室)	
25. 麻疹ウイルスの神経系細胞感染のメカニズム……………	110
柳 雄介 (九州大学大学院医学研究院ウイルス学分野)	
26. ヒト神経系培養細胞におけるナタリズマブの JC ウイルス (JCV) 増殖性への影響 ……………	112
澤 洋文 (北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門)	
27. 進行性多巣性白質脳症 (PML) の診断のための脳脊髄液の JC ウイルス検査の実施と国内における PML の臨床的・疫学的解析 (2010 年 4 月～12 月)……………	116
西條 政幸 (国立感染症研究所ウイルス第一部・部長)	
28. 予後調査からみた PML ならびに治療薬としてのメフロキンの投与方法と 観察項目の作成 ……………	120
岸田 修二 (東京都立駒込病院脳神経内科)	
29. 亜急性硬化性全脳炎サーベイランスの方法に関する検討 公的データベースに関する予備調査 ……………	126
岡 明 (杏林大学医学部小児科)	
30. 髄液中 14-3-3 タンパク質濃度測定系の維持及び精度向上に資する研究 …	130
佐多徹太郎 (国立感染症研究所・感染病理部)	
31. パプアニューギニア国東部高地州における SSPE 発症リスク、 とくにパキスタン国および日本との比較……………	132
高須 俊明 (医療法人崇徳会長岡西病院神経内科)	

32. 亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) の発生状況 ー特定疾患治療研究事業データの解析ー	140
多田 有希 (国立感染症研究所感染症情報センター/ 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学)	
33. 沖縄県における麻疹流行と SSPE 発症数の疫学調査	149
愛波 秀男 (静岡県立こども病院地域医療連携室兼神経科)	
34. JC ウイルスはヒトに脳腫瘍を発生させるのか?	152
宍戸-原 由紀子 (杏林大学医学部病理学教室)	
35. JC ウイルス関連蛋白のメチル化遺伝子結合蛋白 MeCP2 による 転写制御の解析	155
長嶋 和郎 (札幌東徳州会病院・病理部)	
36. 同一のメフロキン投与スケジュールで治療した進行性多巣性白質脳症 (PML) の検討 (2010 年における西日本症例を中心に)	157
雪竹 基弘 (佐賀大学医学部附属病院神経内科)	
37. HIV-1 Tat の PML 型 JCV 増殖促進機構の解明と宿主細胞に及ぼす影響	160
奴久妻聡一 (神戸市環境保健研究所微生物部)	
38. プリオン病における MRI-autopsy images と剖検対比の試み ープリオン病における剖検の重要性、推進のためにー	163
高尾 昌樹 (地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター 神経病理学研究 (高齢者ブレインバンク) 財団法人脳血管研究所美原記念病院神経内科 インディアナ大学医学部神経病理学)	
39. 耐熱性プロテアーゼによるプリオン分解	167
古賀 雄一 (大阪大学大学院工学研究科生命先端工学専攻)	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	169
V. 2010 年度活動状況	183
VI. プリオン病分科会	189
VII. プリオン病の市民講座	193

VIII. 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および プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究班 合同班会議	195
IX. SSPE・PML 分科会	199
X. プリオン病及びサーベイランスと対策に関する全国担当者会議 研究報告	201
1. プログラム	202
2. プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する新しい仕組み 水澤 英洋 (東京医科歯科大学大学院脳神経病態学)	203
3. わが国のプリオン病の現状：サーベイランスの結果 中村 好一 (自治医科大学地域医療センター公衆衛生学部門)	204
4. プリオン病の疫学：世界の動向 坂井 健二 (金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科学)) 山田 正仁 (金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科学))	205
5. プリオン病の感染予防とインシデント委員会 斉藤 延人 (東京大学大学院医学系研究科脳神経外科学)	206
6. 手術に際してのプリオン病対策 大久保 憲 (日本手術医学会)	207
7. 東北地区のサーベイランスとその課題 志賀 裕正 (あおば脳神経外科神経内科)	208
8. 九州・山口・沖縄地区のサーベイランスとその課題 村井 弘之 (飯塚病院神経内科)	209
XI. 代表的業績	211

総括研究報告

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

- 研究代表者：水澤 英洋 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学(神経内科学)分野
- 研究分担者：毛利 資郎 動物衛生研究所プリオン病研究センター
- 研究分担者：作道 章一 大阪大学微生物病研究所ウイルス免疫
- 研究分担者：金子 清俊 東京医科大学医学部神経生理学講座
- 研究分担者：桑田 一夫 岐阜大学人獣感染防御研究センタープリオン研究部門
- 研究分担者：田中 元雅 理化学研究所脳科学総合研究センター田中研究ユニット
- 研究分担者：新 竜一郎 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染免疫学講座感染分子解析学分野
- 研究分担者：小林 篤史 東北大学大学院医学系研究科プリオン蛋白研究部門 CJD 早期診断・治療法開発分野
- 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
- 研究分担者：坂口 末廣 徳島大学疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門
- 研究分担者：松田 治男 広島大学大学院生物圏科学研究科生物機能開発学専攻分子生命開発学講座(免疫生物学)
- 研究分担者：横山 隆 動物衛生研究所プリオン病研究センタープリオン病研究チーム
- 研究分担者：堂浦 克美 東北大学大学院医学系研究科プリオン蛋白研究部門プリオン蛋白分子解析分野
- 研究分担者：山田 達夫 福岡大学医学部神経内科学
- 研究分担者：調 漸 長崎大学医学部歯学部附属病院へき地病院再生支援・教育機構
- 研究分担者：村山 繁雄 東京都高齢者研究福祉振興財団東京都老人総合研究所老人病のゲノム解析研究チーム高齢者ブレインバンク
- 研究分担者：湯浅 龍彦 国立精神・神経センター国府台病院神経内科
- 研究分担者：三條 伸夫 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学(神経内科学)分野
- 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
- 研究分担者：佐々木真理 岩手医科大学先端医療研究センター
- 研究分担者：黒岩 義之 横浜市立大学大学院医学研究科神経内科
- 研究分担者：山田 正仁 金沢大学大学院医学系研究科脳病態医学講座脳老化・神経病態科学
- 研究分担者：市山 高志 山口大学医学部附属病院小児科
- 研究分担者：細矢 光亮 福島県立医科大学小児科学講座
- 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
- 研究分担者：堀田 博 神戸大学大学院医学系研究科微生物学分野
- 研究分担者：網 康至 国立感染症研究所動物管理室村山分室
- 研究分担者：柳 雄介 九州大学大学院医学研究院ウイルス学分野
- 研究分担者：澤 洋文 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター分子病態・診断部門
- 研究分担者：岸田 修二 東京都立駒込病院脳神経内科
- 研究分担者：西條 政幸 国立感染症研究所ウイルス第1部第3室

研究要旨

プリオン病、亜急性硬化性全脳炎 (SSPE)、進行性多巣性白質脳症 (PML) のいずれにおいても大きな発展がみられ、成果をまとめて 300 ページを越える成書「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症」を刊行した (金原出版)。今年度からプリオン病のサーベイランスと感染予防に関しては指定研究に移行したが、研究遂行には緊密な連携が必要であり協力して研究を推進した。まず、疫学調査を含む臨床的研究では臨床調査個人票ルート、感染症届け出ルート、遺伝子・髄液検査ルートの三つが確立しサーベイランスのスピードアップや悉皆性が向上した。また研究経費提供など剖検率の向上に向けても努力が続けられ、2010 年 8 月の時点で 75 例の硬膜移植後クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) を含む 1552 例がプリオン病と認定され最新の疫学像が明らかにされた。変異型 CJD は 2004 年度の 1 例のみでその後は発生していない。これらの 1999 年以降のサーベイランスに基づく疫学データが **Brain** 誌により世界へ発信された。医療を介する感染の予防についてはその可能性のある事例は新たに数件が認定され合計で 10 事例となり、対策として昨年度設立されたインシデント委員会による対応が行われた。また、医師会や脳神経外科学会などの当該学会を介した周知の他、一昨年改訂した感染予防ガイドラインの周知に努めた。これらの研究班の成果等は班会議終了後速やかに全国担当者会議を開催し報告されその周知徹底を計った。SSPE および PML も合同分科会等、研究状況や方針を議論し行動計画を策定して個別研究とともに全体としての共同研究を推進した。SSPE ではサーベイランス体制を強化しこれまでの調査データの分析とともに新規調査計画が定められた。PML でも精度の高い迅速な髄液検査診断サービスとそれに基づくサーベイランス体制を確立し、抗マラリア薬メフロキン等による標準治療を策定し全国に支援を行って本症が治療可能になりつつある。基礎研究と共に本症の神経病理研究が **Acta Neuropathologica** 誌の Kurt Jellinger 賞を受賞し高く評価された。臨床的研究では、プリオン病で髄液 14-3-3 の標準化が完成し診断基準に WHO と同じ基準を採用することとした。本研究にて開発された QUIC 法による髄液中の異常プリオン蛋白の検出はプリオン病の生前確定診断を可能にするものであり **Nature Medicine** 誌により発信され世界から高い評価を受けている。MRI の標準化と診断サービスが定着し、ペントサンの治療も継続されている。SSPE でも髄液検査の国際的標準化、siRNA の基礎実験、リバビリン治療などの治療研究においても世界をリードする研究が行われ成果をあげている。また、これらの難治性疾患の克服にはその成因と発症機序の解明が必須であるが、この基礎研究分野でもプリオン蛋白の正常機能の解析、異常化のメカニズム、新しい動物モデルと接種効率の検討、SSPE ウイルス株での M・F・H 蛋白の役割、宿主側遺伝要因・受容体の同定、PML の病理メカニズムにおける JC ウイルス産生蛋白の機能の解明など世界の最先端の研究成果が得られた。

A. 研究目的

プリオン病、亜急性硬化性全脳炎 (SSPE)、進行性多巣性白質脳症 (PML) の 3 疾患はいずれも難治性感染症でいったん感染するとほぼ 100% 死に至る悲惨な疾患である。その原

因 (分子) は判明しているものの、感染 (伝播) や発症のメカニズムについて本質的なことはほとんどわかっていないといっても過言ではない。

本研究の目的は、これらのプリオン病及び

遅発性ウイルス感染症について、その発症のメカニズムを明らかにし、早期診断、早期治療、発症予防、感染予防などの方法を開発することである。具体的にはサーベイランス調査等の疫学的研究を通じて疾患の実態と現状の把握に努め、疫学的側面から発症の危険因子を検討し、早期診断手法や治療法の有用性の評価や改善に努める。とくに人獣共通感染症であるプリオン病では牛海綿状脳症からの感染である変異型クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)の監視、医原性である硬膜移植後CJDが我が国に多く存在することなどから、指定研究であるプリオン病のサーベイランス及び感染予防に関する調査研究班内にサーベイランス委員会を組織し全国の難病担当専門医と協力してサーベイランス調査を遂行する。さらに実地調査によって患者や家族の抱えている問題点を明確にし、患者や家族に対する医療と心理ケアの両面からの支援を推進する。臨床の側面からは各病型や個々の症例の臨床的問題や特異な点、新しい知見を検証することにより、疾患の病態に関する情報をより正確で患者や医療者に有用なものとし診療に寄与する。基礎研究では分子生物学的手法、培養細胞を用いた実験系、病理学的検索、モデル動物の作製等の様々な手法を学際的に駆使して発症機序の解明と予防法・治療法の開発に取り組む。さらに臨床における治験データを集積し、改良を加え、より効果的で副作用の少ない治療プロトコルを開発することを目的としている。

B. 研究方法

プリオン病に関しては、引き続き全国を10のブロックに分けてサーベイランス委員会を組織して、各都道府県の難病担当専門医と協力して臨床的評価を行い、髄液中14-3-3蛋白・タウ蛋白濃度の測定による診断支援事業を充実させ、さらにQuaking-Induced Conversion (QUIC)法による髄液中の異常プ

リオン蛋白の検出による診断の迅速化を推進した。硬膜移植後プリオン病の調査、カウンセリング体制の充実、「プリオン病感染予防ガイドライン 2008年度版」のホームページ等を利用した一層の普及に努めた。

異常プリオン蛋白感染に必要な結合蛋白を探索し、プリオン蛋白遺伝子欠損マウスの解析からプリオン蛋白の機能を検討した。

モデルマウスや培養細胞を用いて異常プリオン蛋白の細胞内動態を調べ、感染性規定因子やプリオン蛋白の分解経路などを検索した。また、新たにGSS自然発症マウスの作製に成功し、自然発症における異常プリオン蛋白の動態の解明に大きく近づいた。

新たな抗体を作製し、プリオン病やプリオン感染動物の診断の効率化を図った。QUIC法による脳脊髄液中異常プリオン蛋白高感度検出の実証を行なった。

プリオンを不活化する実際的滅菌法の研究を進め、治療法の開発では、効果の期待出来る既存薬剤の臨床試験とともに、革新的な新規薬物の開発も推進した。

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)に関しては、サーベイランス体制を強化してこれまでの調査データの分析を進め、新規疫学調査計画を策定した。パプアニューギニアやフィリピンにおいて実地調査や共同研究を施行した。また、SSPEの予防における、麻疹ワクチンの重要性を日本とパプアニューギニアで再確認した。ホームページの充実や冊子体のガイドラインの一層の普及に努めた。種々の遺伝子発現を比較し発症に関連している分子を同定し、麻疹ウイルス受容体を有しない神経細胞への感染のメカニズムの解明を進めた。RNAiを用いた基礎的研究を推進し、持続感染サル脳の病理学的研究を行った。新たなモデル動物を作製し、その病理学的特徴を解析した。

進行性多巣性白質脳症(PML)に関してもサーベイランスを開始し、生検脳の病理学的特徴、各種治療法について検索を進めた。JCウイルスを定量するためリアルタイム PCRによる検査方法の感度・特異度の調査を行った。PML患者脳における新たな病理学的特徴と capsid 蛋白の感染細胞内での細胞障害機序について神経病理学的に検討した。細胞周期と JC ウイルス増殖との関連について検討した。既存の診療ガイドラインを改訂し、文献的に発症状況を明らかにした。

C. 研究結果および D. 考察

プリオン病

1) 全国サーベイランスと感染予防の推進

中村研究分担者は、1999年より本邦で行われているサーベイランス調査の対象となった2701件を疫学的に検討し、2010年8月までに1531名をプリオン病と判定し本邦におけるプリオン病の実態を明らかにした。山田研究分担者は CJD サーベイランス委員長として研究代表者とともにサーベイランス調査を推進し、10年間のデータをまとめて **Brain** 誌に掲載しわが国の成果を世界に発信するとともに(2010;133:3043-57)、CJD 発症年齢は70歳代でピークになることを報告した。三條研究分担者は遺伝性プリオン病の髄液バイオマーカーと臨床経過、発症年齢との関連を解析した。岩崎研究分担者は家族性 CJD の V180I 変異の病理学的特徴として、神経細胞の脱落やプリオン蛋白の沈着が軽度であることを報告し、高尾研究分担者は剖検前に撮影した MRI と剖検所見から拡散強調画像の高信号域は強い海綿状変化やグリオシスを表していることを明らかにした。新研究分担者は、QUIC法を用いた CJD 患者由来脳脊髄液中の異常プリオン蛋白の検出率は感度 83.3%、特異度 100%と高感度であることを報告し、湯浅研究分担者は CJD 患者で抗グルタミン酸受容体抗体陽性になる場合がある

ことを報告した。佐々木研究分担者は CJD 脳の MRI 撮影における ADC 値の機種間差異が被験者内差異よりも大きいことを報告した。黒岩研究分担者は V180I 家族性 CJD 患者で MRI 上の変化が認められない後頭葉内側面の糖代謝が保たれることを報告した。今年度も、医療行為を介した二次感染の可能性のある事例が発生し、今後の対策として CJD インシデント委員会による調査がなされ、リスク保有可能性者が新たに50名指定され、フォローされることとなった。

2) 正常プリオン蛋白の代謝過程の解明と機能解析

金子研究分担者は、正常プリオン蛋白の分子内切断酵素としてカルパインを同定した。作道研究分担者は、神経細胞、アストロサイト、更には免疫系細胞であるマクロファージの生存維持に正常型 PrP が関与していることを見いだした。

3) プリオン蛋白異常化の分子機構とそれによる神経変性機序の解明

横山研究分担者は培養細胞における非感染関連因子の候補遺伝子を確認し、siRNA で感染性が獲得されることを発見した。坂口研究分担者は正常型プリオン蛋白の過剰発現によるアポトーシスが既知のシグナル伝達系を介さずオートファジー・マーカーである LC3II の発現亢進を介することを明らかにした。毛利研究分担者は非定型 BSE は従来型 BSE と同等にヒトへの感染性があることを明らかにした。田中研究分担者は酵母プリオン蛋白のオリゴマーには構造多型があり、コア構造の外側の構造が多型に影響することを発見した。堀内研究分担者は PrP^{Sc} が後期エンドソームにて分解処理されることを明らかにした。

4) 異常プリオン蛋白の高感度検出法の確立とヒトプリオン病の早期診断法の確立

松田研究分担者は、新たな生物学的マーカーとしてヒト心臓型 FABP の抗体を開発し、CJD 患者の髄液で陽性であることを報告した。新研究分担者による QUIC 法を用いた CJD 患者由来脳脊髄液中の異常プリオン蛋白の検出の研究は *Nature Medicine* に掲載され世界に発信された(2011;17:175-8)。竹内研究分担者はリコンビナント PrP^c を用いた PMCA 法による異常プリオン蛋白の増幅の効率を高めることに成功した。佐多研究協力者は髄液 14-3-3 蛋白測定用の 14-3-3 蛋白の精製を行った。

5) プリオン蛋白質不活化法の改良とプリオン病治療法の開発

山田(達)研究分担者は、ペントサン脳室内持続注入臨床試験に参加した 11 例のうち 2 例が治療継続中であり、死亡例の脳病理の検索中であることを報告した。堂浦研究分担者は、免疫賦活剤のクレスチンにプリオン蛋白の増殖抑制効果があることを発見した。桑田研究分担者はプリオン蛋白の構造解析から、プリオン蛋白の異常化を阻止する抗プリオンリード化合物 GN8 がほ乳類に特有の配列(AA 189-195)に結合してプリオン蛋白を安定化させることを報告した。古賀研究協力者は好熱プロテアーゼ TK サチライシンを発見し、異常プリオン蛋白を効率的に分解することを示した。

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)

1) SSPE の実態調査

SSPE・PML 分科会を開催し現在の研究状況を報告した。これまでの全国サーベイランス調査による 118 例の分析より、SSPE の危険因子として 2 歳未満での麻疹罹患が明らかとなり、さらに生後 6 ヶ月未満に麻疹罹患があると早期発症することが明らかとなった。

岡研究分担者と多田研究協力者は現在のデータベース上の登録状況が不十分であることを報告した。愛波研究協力者は沖縄県での麻疹流行後の SSPE 発生率は高くないことを報告し、他の因子の関与を指摘した。早期診断と早期治療を推進するため、ホームページや冊子体を活用して診療ガイドラインの普及に努めた。市山研究分担者は、SSPE 患者血清中の IFN- α と β が高値であることを見いだした。野村研究協力者はリバビリンの投与が有効であることを報告した。脳室内持続投与ポンプを用いるより効果的な投与方法の開発が進められた。楠原研究分担者はフィリピンでの脳室内リバビリン投与で比較的良好な結果が得られたことを報告した。

2) SSPE の発症機序に関する基礎的研究

堀田研究分担者は SSPE ウイルス感染細胞における c-Jun、caspase-3、cytochrome c の活性化所見より JNK 活性を介したミトコンドリア介在性アポトーシスが誘導されることを明らかにし、麻疹ウイルスの持続感染において N・P・L 蛋白の変異が必須であることを報告した。高須研究協力者は、パプアニューギニア、パキスタン、本邦の症例について比較検討し、幼若期の麻疹感染のリスク、麻疹予防の有効性などを報告した。

3) 実験動物モデル、感染培養細胞の研究

細矢研究分担者はヌードマウスへの麻疹ウイルスの持続感染実験から M 遺伝子の変異が多いことを見いだした。網研究分担者は、麻疹持続感染のカニクイザル・モデル動物の脳から分離した麻疹ウイルスには病原性がないことを報告した。柳研究分担者はマウスやヒトの神経細胞培養には SLAM 非依存性に、ミクログリアには SLAM 依存性に麻疹ウイルス感染が起こっていることを明らかにした。

進行性多巣性白質脳症(PML)

1) 疫学的研究

長嶋研究協力者は JC ウイルス感染細胞では DNA メチル化遺伝子結合蛋白 MeCP2 の発現が核で亢進している事を報告した。原研究協力者は、**神経病理学的研究をまとめ Acta Neuropathologica 誌の Kurt Jellinger 賞を受賞するとともに、JC ウイルス感染と脳腫瘍の関連性を指摘した。**

2) PML の迅速診断法の確立

西條研究分担者は、リアルタイム PCR 法を用いた JC ウイルス検査法で平成 22 年 4 月から 12 月までに全国より 138 例の検体を調査し、13 例(12%)が陽性であり、症状に相関してウイルス量が増加することを報告した。研究班では、この**髄液検査時に同意を取得し、サーベイランスを行うと共に、後述の治療法の指導も行う体制を整えた。**

3) PML の新たな治療法の開発

奴久妻研究協力者は HIV Tat、Pur α 、SV40 T 抗原の相互作用が JC ウイルスの増殖を促進していることを報告した。澤研究分担者は、培養細胞におけるナタリズマブの JC ウイルス感染予防効果は認められないことを彰以下にした。岸田研究分担者は統計学的な評価には例数が不足したが、**新たな治療薬として抗マラリア薬メフロキンが非 HIV 関連 PML にも HIV 関連 PML にも有効であると**考えられることを報告し、研究班として**治療プロトコルを作成した。**

4) PML の診療状況

雪竹研究協力者は今年度の論文をレビューし、生物学的製剤に関連した PML への対応やメフロキン投与を含めた **PML 診療ガイドラインへの改訂を進めた。**

E. 結論

プリオン病、SSPE、PMLの3分野において、大きな研究の進展が見られた。プリオン病については、**QUIC法によるCJD患者の脳脊髄液から異常プリオン蛋白の検出が可能となり、新しいサーベイランス体制により迅速性と正確度がさらに向上し、調査件数も年々増加している。**インシデント委員会の発展により事例調査も速やかに行われた。発症率の変化といった世界的な課題から地域性といった国内問題まで、また適切な対策の立案と実施にも大きく寄与するものと期待される。**SSPEとPMLについても全国調査体制が整備され、本格的にサーベイランスが開始された。**今後プリオン病に近い効果が得られるものと思われる。新規に作成された**診断基準やガイドラインが普及してきており、プリオン蛋白やJCウイルスの遺伝子検査や病理検査体制の整備、髄液14-3-3蛋白やタウ蛋白検査などの診断支援を研究分担者等の協力により全国に無料で提供できる体制を構築し、その特異性・感受性は年々上がっており、検査所見の信頼性向上とその意義の解明が進むなどその効果は非常に大きい。**

治療については、プリオン病でのペントサン脳室内投与の臨床試験の効果が報告され、病理解析が進行中である。これらの情報は**全国担当者会議により周知され、適切な診断法や治療法の普及に大きく貢献している。**SSPEでは診療ガイドラインの普及を計り、早期診断に利用できるようにした。リバビリンの**臨床試験が進行中で、さらに持続注入ポンプを用いた治療研究の推進を計った。**PMLにおいては**抗マラリア薬のメフロキンの効果が確認されつつあり、治療ガイドラインの改訂を進めた。**

基礎研究では、プリオン蛋白の機能や細胞内分解経路、プリオン蛋白異常化に係わる知見、異常プリオン蛋白の検出方法の開発、新しい動物モデルの作製などで大きな成果があがっており、**神経障害機序の解明、発症機序の解明、根本的な治療法の開発に大いに役立つと期待**

される。SSPEでのウイルスゲノムの特徴と宿主側の反応性とくに遺伝的要因や未知の受容体の同定が進み、PMLでの新たな効果的治療法の開発の進展とあわせ、発症機序の解明と治療法や予防法の開発に大きく貢献するとの期待される。

これらの成果は、すでに臨床レベルではひろく周知され活用されているが、基礎研究の成果も大いに活用されることが望ましい。また、300 ページを越える成書「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症」としてまとめられ金原出版より発刊された。さらに、6月の欧州サーベイランス会議、日米医学協力計画第46回日米合同委員会への参加、8月のアジアオセアニアプリオン病シンポジウム(北海道)の後援、11月の市民公開講座、2月のプリオン病のサーベイランスとその対策に関する全国担当者会議など広く国内外への情報発信と研究協力を推進した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hachiya N, Komata Y, Harguem S, Nishijima K, Kaneko K. Possible involvement of calpain-like activity in normal processing cellular prion protein, *Neuroscience Letters* 2011, (in press)
- 2) 八谷如美, 金子清俊. 正常プリオン蛋白とその機能, プリオン病と遅発性ウイルス感染症. 金原出版 22-28, 2010
- 3) 金子清俊. その他の認知症 7) 金子清俊, その他の認知症 7) プリオン病と認知症. 認知症治療マニュアル. 神経内科 72 : 435-439, 2010
- 4) 八谷如美, 金子清俊. クロイツフェルト・ヤコブ病, 今日の精神疾患治療指針. 医学書院 2011(印刷中)

- 5) 八谷如美, 金子清俊. プリオン, 生化学事典. 朝倉書店, 2011(印刷中)
- 6) Ano Y, Sakudo A, Uraki R, Sato Y, Kono J, Sugiura K, Yokoyama T, Itohara S, Nakayama H, Yukawa M, Onodera T. Enhanced enteric invasion of scrapie agents into the villous columnar epithelium via maternal immunoglobulin. *Int J Mol Med* 26 : 845-851, 2010
- 7) Uraki R, Sakudo A, Ando S, Kitani H, Onodera T. Enhancement of phagocytotic activity by prion protein in PrP-deficient macrophage cells. *Int J Mol Med* 26 : 527-532, 2010
- 8) Sakudo A, Xue G, Kawashita N, Ano Y, Takagi T, Shintani H, Tanaka Y, Onodera T, Ikuta K. Structure of the prion protein and its gene : an analysis using bioinformatics and computer simulation. *Curr Protein Pept Sci* 11 : 166-179, 2010
- 9) 作道章一, 小野寺 節. 慢性消耗病とその他の動物プリオン病. In : 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」・編. プリオン病と遅発性ウイルス感染症, 東京, 金原出版 235-239, 2010
- 10) 作道章一. プリオン病とプリオン不活化法の一般知識. *防菌防黴* 38 : 149-153, 2010
- 11) Sakudo A, Onodera T. Tissue- and cell type-specific modification of prion protein (PrP)-like protein Doppel, which affects PrP endoproteolysis. *Biochem Biophys Res Commun* 404 : 523-527, 2011
- 12) Sakudo A, Ano Y, Onodera T, Nitta K, Shintani H, Ikuta K, Tanaka Y.

- Fundamentals of prions and their inactivation. *Int J Mol Med* (in press)
- 13) 森 剛志, 坂口末廣. プリオン病. *Clinical Neuroscience* 28(8) : 906-908, 2010
 - 14) 坂口末廣. プリオン蛋白異常化と伝達・進行のメカニズム. In : 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」・編. *プリオン病と遅発性ウイルス感染症*, 東京, 金原出版株式会社 37-43, 2010
 - 15) Kobayashi A, Sakuma N, Matsuura Y, Mohri S, Aguzzi A, Kitamoto T. Experimental verification of a traceback phenomenon in prion infection. *J Virol* 84(7) : 3230-3238, 2010
 - 16) Yokoyama T, Masujin K, Schmerr MJ, Shu Y, Okada H, Iwamaru Y, Imamura M, Matsuura Y, Murayama Y, Mohri S. Intraspecies prion transmission results in selection of sheep scrapie strains. *PLoS One* 5(11) : e15450, 2010
 - 17) Yokoyama T, Okada H, Murayama Y, Masujin K, Iwamaru Y, Mohri S. Examination of the Offspring of a Japanese Cow Affected with L-Type Bovine Spongiform Encephalopathy. *J Vet Med Sci* 73(1) : 121-123, 2011
 - 18) Shimizu Y, Kaku-Ushiki Y, Iwamaru Y, Muramoto T, Kitamoto T, Yokoyama T, Mohri S, Tagawa Y. A novel anti-prion protein monoclonal antibody and its single-chain fragment variable derivative with ability to inhibit abnormal prion protein accumulation in cultured cells. *Microbiol Immunol* 54(2) : 112-121, 2010
 - 19) Ushiki-Kaku Y, Endo R, Iwamaru Y, Shimizu Y, Imamura M, Masujin K, Yamamoto T, Hattori S, Itohara S, Yokoyama T. Tracing conformational transition of abnormal prion proteins during interspecies transmission by using novel antibodies. *J Biol Chem* 285(16) : 11931-11936, 2010
 - 20) Hasegawa K, Mohri S, Yokoyama T. Fragment molecular orbital calculations reveal that the E200K mutation markedly alters local structural stability in the human prion protein. *Prion* 4(1) : 38-44, 2010
 - 21) An SS, Lim KT, Oh HJ, Lee BS, Zukic E, Ju YR, Yokoyama T, Kim SY, Welker E. Differentiating blood samples from scrapie infected and non-infected hamsters by detecting disease-associated prion proteins using Multimer Detection System. *Biochem Biophys Res Commun* 392(4) : 505-509, 2010
 - 22) Gomi H, Yokoyama T, Itohara S. Role of GFAP in morphological retention and distribution of reactive astrocytes induced by scrapie encephalopathy in mice. *Brain Res* 1312 : 156-167, 2010
 - 23) Ishikawa T, Kuwata K. Interaction Analysis of the Native Structure of Prion Protein with Quantum Chemical Calculations. *J. Chem. Theory Comput* 6 : 538-547, 2010
 - 24) Endo S, Matsunaga T, Kuwata K, Zhao Hai-Tao, El-Kabbani O, Kitade Y, Hara A. Chromene-3-carboxamide derivatives discovered from virtual screening as potent inhibitors of the tumour maker, AKR1B10. *Bioorg. Med. Chem* 18 : 2485-2490, 2010
 - 25) Ishikawa T, Kuwata K. Acceleration of monomer self-consistent charge process in fragment molecular orbital method. *Chem-Bio Inform. J.* 10 : 24-31, 2010

- 26) Yamamoto N, Kuwata K. Redox behaviors of the neurotoxic portion in human prion protein, HuPrP(106–126), *Chemical Physics Letters* 498(2010) 184–187, doi : 10.1016/j.cplett, 2010.08.041
- 27) Ishikawa T, Yamamoto N, Kuwata K : Partial energy gradient based on the fragment molecular orbital method : application to geometry optimization. *Chemical Physics Letters* 500 : 149–154, 2010
- 28) Matsui Y, Satoh K, Matsukura K, Watanabe T, Nishida N, Matsuda H, Sugino M, Shirabe S, Eguchi K, Kataoka Y. Development of an ultra-rapid diagnostic method based on heart-type fatty acid binding protein levels in the CSF of CJD patients. *Cell Mol Neurobiol* 30 : 991–999, 2010
- 29) Tahara H, Ide K, Basnet NB, Tanaka Y, Matsuda H, Takematsu H, Kozutsumi Y, Ohdan H. Immunological property of antibodies against N-glycolylneuraminic acid epitopes in cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase-deficient mice. *J Immunol* 184 : 3269–3275, 2010
- 30) Inoue N, Okamura T, Kokubo Y, Fujita Y, Sato Y, Nakanishi M, Yanagida K, Kakino A, Iwamoto S, Watanabe M, Ogura S, Otsui K, Matsuda H, Uchida K, Yoshimoto R, Sawamura T. LOX-1 index, a novel predictive biochemical marker for coronary heart disease and stroke. *Clin Chem* 56 : 550–558, 2010
- 31) Atarashi R, Satoh K, Sano K, Fuse T, Yamaguchi N, Ishibashi D, Matsubara T, Nakagaki T, Yamanaka H, Shirabe S, Yamada M, Mizusawa H, Kitamoto T, Klug G, McGlade A, Collins SJ, Nishida N : Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. *Nature Medicine* 2011, in press
- 32) Wiham JM, Orru CD, Bessen RA, Atarashi R, Sano K, Race B, Meade-White KD, Taubner LM, Timmes A, Caughey B : Rapid end-point quantitation of prion seeding activity with sensitivity comparable to bioassays. *PLoS Pathogens* 6(12) : e1001217, 2010.12.2
- 33) Kim JI, Cali I, Surewicz K, Kong Q, Raymond GJ, Atarashi R, Race B, Qing L, Gambetti P, Caughey B, Surewicz WK : Mammalian prions generated from bacterially expressed prion protein in the absence of any mammalian cofactors. *J Biol Chem* 285(19) : 14083–14087, 2010
- 34) Sakata H, Horiuchi M, Takahashi I, Kinjo M. Conformational Analysis of Soluble Oligomers of GFP Tagged Prion Protein by Fluorescence Fluctuation Spectroscopy. *Curr. Pharm. Biotechnol* 11 : 87–95, 2010
- 35) Sato Y, Shimonohara N, Hanaki KI, Goto M, Yamakawa Y, Horiuchi M, Takahashi H, Sata T, Nakajima N. ImmunoAT method : an initial assessment for the detection of abnormal isoforms of prion protein in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. *J. Virol. Methods* 165 : 261–267, 2010
- 36) Watanabe Y, Hiraoka W, Igarashi M, Ito K, Shimoyama Y, Horiuchi M, Yamamori T, Yasui H, Kuwabara M, Inagaki F, Inanami O. A novel

- copper(II) coordination at His186 in full-length murine prion protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 394 : 522-528, 2010
- 37) Sassa Y, Yamasaki T, Horiuchi M, Inoshima Y, Ishiguro N. The effects of lysosomal and proteasomal inhibitors on abnormal forms of prion protein degradation in murine macrophages. *Microbiol. Immunol* 54 : 763-768, 2010
- 38) Hamanaka T, Sakasegawa Y, Omoto A, Kimura T, Ando T, Doh-ura K. Anti-prion activity of protein-bound polysaccharide K in prion-infected cells and animals. *Biochem Biophys Res Commun* 2011, in press
- 39) Teruya K, Nishizawa K, Doh-ura K. Semisynthesis of a protein with cholesterol at the C-terminal, targeted to the cell membrane of live cells. *Protein J.* 29(7) : 493-500, 2010.10
- 40) Okamura N, Shiga Y, Furumoto S, Tashiro M, Tsuboi Y, Furukawa K, Yanai K, Iwata R, Arai H, Kudo Y, Itoyama Y, Doh-ura K. In vivo detection of prion amyloid plaques using [(11)C]BF-227 PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 37(5) : 934-941, 2010.5
- 41) Fujita K, Harada M, Yuasa T, Sasaki M, Izumi Y, Kaji R. Temporal evolution of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease monitored by 3-Tesla MR spectroscopy. *J Neurol* (in press)
- 42) 岸田日帯, 黒岩義之. 感染予防. In : 厚生労働省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」・編. プリオン病と遅発性ウイルス感染症, 東京, 金原出版, 200-212, 2010
- 43) Iwasaki Y, Mori K, Ito M, Nagaoka M, Ieda T, Kitamoto T, Yoshida M, Hashizume Y. An autopsied case of V180I Creutzfeldt-Jakob disease presenting with panencephalopathic-type pathology and a characteristic prion protein type. *Neuropathology.* 2010 (in press).
- 44) Kobayashi A, Mizukoshi K, Iwasaki Y, Miyata H, Yoshida Y, Kitamoto T. Co-occurrence of types 1 and 2 PrP^{res} in sCJD-MM1. *Am J Pathol.* 2010 (in press).
- 45) Saito Y, Iwasaki Y, Aiba I, Kitamoto T, Yoshida M, Hashizume Y. An autopsy case of MM2-cortical + thalamic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathology.* 2010 (in press).
- 46) Iwasaki Y, Mimuro M, Yoshida M, Kitamoto T, Hashizume Y. Survival to akinetic mutism state in Japanese cases of MM1-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease is similar to Caucasians. *Eur J Neurol.* 2010 (in press).
- 47) Tsukui K, Iwasaki Y, Nagaoka M, Tadokoro K. Detection of RNA in the plasma of patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, Gerstmann-Straüssler syndrome and other non-transmissible spongiform encephalopathy brain disorders. *Microbiology Insight* 3 : 27-36, 2010
- 48) 岩崎 靖, 森 恵子, 伊藤益美, 吉田眞理, 橋詰良夫. 全脳型で長期の経過を示した MM1 型孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病の 1 剖検例. *神経内科* 72 : 413-418, 2010
- 49) Terada T, Tsuboi Y, Obi T, Doh-ura K, Murayama S, Kitamoto T, Yamada T, Mizoguchi K. Less protease-resistant PrP in a patient with sporadic CJD