

Creutzfeldt-Jakob disease is similar to Caucasians. *Eur J Neurol*. 2010 (in press).

- 5) Tsukui K, Iwasaki Y, Nagaoka M, Tadokoro K. Detection of RNA in the plasma of patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, Gerstmann-Sträussler syndrome and other non-transmissible spongiform encephalopathy brain disorders. *Microbiology Insight* 3 : 27-36, 2010
- 6) 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

2. 学会発表

- 1) 岩崎 靖, 森 恵子, 伊藤益美. 当院における無動性無言状態のプリオン病患者の治療に関する検討. 第 107 回日本内科学会総会, 東京, 2010.4.11
- 2) 岩崎 靖, 森 恵子, 伊藤益美, 家田俊明, 三室マヤ, 吉田眞理, 橋詰良夫. プリオン蛋白遺伝子コドン 180 変異を伴う Creutzfeldt-Jakob 病の長期経過例. 第 51 回日本神経病理学会総会, 東京, 2010.4.23
- 3) 加藤博子, 安藤哲朗, 川上 治, 杉浦 真, 吉田眞理, 橋詰良夫, 岩崎 靖, 北本哲之. 急速に進行し, ミオクロームス、PSD を認めた孤発性 CJD MM2 皮質型と MM1 型の合併が疑われた 1 例. 第 51 回日本神経病理学会総会, 東京, 2010.4.23
- 4) 岩崎 靖, 三室マヤ, 吉田眞理, 橋詰良夫. MM2 型孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床病理学的スペクトラム. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.21
- 5) 岩崎 靖, 森 恵子, 伊藤益美, 家田俊明, 三室マヤ, 吉田眞理, 橋詰良夫. 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 1 剖検例. 第 127

回日本神経学会東海北陸地方会, 名古屋, 2010.6.26

- 6) Iwasaki Y, Mori K, Ito M, Mimuro M, Yoshida M, Hashizume Y. Clinicopathologic characteristics of V180I Creutzfeldt-Jakob disease. *Asia-Oceania Symposium on Prion Diseases 2010*. Sapporo, 2010.7.24
- 7) Iwasaki Y, Mori K, Ito M, Nagaoka M, Ieda T, Kitamoto T. Mimuro M, Yoshida M, Hashizume Y. Clinicopathologic characteristics of V180I Creutzfeldt-Jakob disease in Japan. *PRION* 2010. Salzburg, 2010.9.8-11
- 8) Iwasaki Y, Mori K, Ito M, Nagaoka M, Ieda T, Kitamoto T. Mimuro M, Yoshida M, Hashizume Y. Clinicopathologic characteristics of V180I Creutzfeldt-Jakob disease in Japan. *XVIIth International Congress of Neuropathology*. Salzburg, 2010.9.11-15
- 9) Tsukui K, Iwasaki Y, Nagaoka M, Tadokoro K. Detection of a common RNA in the plasma of patients with different neurodegenerative diseases. *XVIIth International Congress of Neuropathology*. Salzburg, 2010.9.11-15
- 10) 岩崎 靖, 森 恵子, 伊藤益美. 当院における無動性無言状態のプリオン病患者の治療に関する検討. 第 15 回日本神経感染症学会総会, 福島, 2010.10.8

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

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—

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・難病脳内科

研究協力者：藤田 浩司 徳島大学病院神経内科

研究協力者：岩崎 靖 小山田記念温泉病院神経内科

研究協力者：高橋 幸利 国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター

研究要旨

Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) の症状は抗グルタミン酸受容体 (GluR) 抗体陽性脳炎の症状と類似する場合がある。両者に共通する病態の探索を目的に、CJD において抗 GluR 抗体を解析した。対象は CJD 13 例 (孤発性 10 例、V180I 1 例、M232R 2 例)、ALS 10 例、非炎症性てんかん 19 例、健常者 13 例とした。血清・髄液の GluR ζ 1 (NR1) N 末及び C 末、GluR ϵ 2 (NR2B) の N 末、C 末、及び transmembrane regions 間の細胞外ドメイン (TM3-4) に対する抗体を ELISA で測定、CJD 群、ALS 群、対照群の 3 群間で各抗体の抗体価を比較した。その結果、血清では GluR ϵ 2 C 末、TM3-4 に対する抗体が CJD 群で ALS 群より有意に高値だった。髄液では CJD 群、ALS 群ともに抗体価上昇を認めたが両群間に有意差は認めなかった。以上から、CJD で抗 GluR 抗体の上昇を確認し、CJD の病態に免疫学的機序が関与している可能性を示した。

A. 研究目的

Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) は進行性の神経変性疾患であるが、治療に反応しうる自己免疫性ないし自己抗体関連脳炎と症状が類似することがある。例えば、橋本脳症や抗 VGKC (LGI1) 抗体陽性脳炎は臨床検査所見が CJD のそれと酷似する場合がある。さらに、抗グルタミン酸受容体 (GluR) ϵ 2 抗体陽性辺縁系脳炎や抗 NMDA 受容体脳炎では統合失調症様の精神症状が知られるが、CJD でも精神症状は高頻度である。そこで、CJD と抗体陽性脳炎に共通する病態の探索を目的に、CJD において抗 GluR 抗体を解析した。

B. 研究方法

対象は CJD 13 例、ALS 10 例、非炎症性てんかん 19 例、健常者 13 例とした。CJD

の内訳は孤発性 10 例 (確実例 4 例)、V180I 1 例、M232R 2 例 (確実例 1 例) であった。精神症状は CJD 10 例で記載された。

抗 GluR 抗体価測定は ELISA によった。GluR ζ 1 (NR1) N 末及び C 末、GluR ϵ 2 (NR2B) の N 末、C 末、及び transmembrane regions 間の細胞外ドメイン (TM3-4) のペプチドを作成し抗原として用いた。

CJD 群、ALS 群、対照群の 3 群で各抗体価を比較した (Kruskal-Wallis test, Dunn's multiple comparison test)。

(倫理面への配慮)

徳島大学病院倫理委員会の承認を受けた。

C. 研究結果

血清の抗体はいずれも、CJD 群において対

照群より有意に高値であった。GluR ϵ 2 (NR2B) C 末および TM3-4 に対する抗体は ALS 群との比較でも CJD 群で有意に高値であった(図 1)。

髄液の抗体は CJD 群・ALS 群において対照群よりも高値であった。CJD 群と ALS 群の二群間で有意差はなかった(図 2)。

D. 考 察

睡眠障害、統合失調症様症状、うつを含めた精神症状は CJD 患者の 92%で認めたと報告されているが、これまで CJD の精神症状の背景となる病態は十分に解明されていない。

NMDA 受容体に対する抗体は細胞膜の NMDA 受容体を内在化させ機能不全を起こすと考えられ、抗体陽性脳炎における統合失調症様症状との関連が想定されている。CJD における抗 GluR 抗体も同様の働きをしている可能性があるが、今後検証の必要がある。

これまでにヒトおよび動物のプリオン病で複数の自己抗体が報告されている。例えば CJD における抗 axonal filaments 抗体、BSE における抗 *Acinetobacter* 抗体、抗 glial fibrillary acidic protein (GFAP) 抗体などである。本研究結果は、プリオン病において免疫学的あるいは自己免疫的反応が生じているという概念の更なる傍証となる。ただし、これら自己抗体がどのようにして産生されるかは不明である。

本研究には欠点もある。まず、症例数が少なく病型ごとの抗体プロファイルを確認できていない。次に、ELISA 測定のみであり、細胞系における NMDA 受容体との反応性を検証していない。最後に、鑑別の上で問題となる抗体陽性脳炎との直接比較がなされていない。今後これらの課題を解決する必要がある。

展望としては、CJD において抗 GluR 抗体を髄液のみならず血清で確認できたことから、診断に活用できる可能性がある。また、発症前に抗体産生が生じているかは不明であるが、

仮に発症前に抗体上昇するならば、家族歴や感染組織移植歴のある population でのスクリーニングやモニタリングに応用できる可能性がある。

E. 結 論

CJD において抗グルタミン酸受容体抗体の上昇を確認し免疫学的反応の存在を示した。

[参考文献]

- 1) Wall CA, Rummans TA, Aksamit AJ, Krahn LE, Pankratz VS. Psychiatric manifestations of Creutzfeldt-Jakob disease : a 25-year analysis. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 17 : 489-495, 2005
- 2) Iizuka T, Sakai F, Ide T, et al. Anti-NMDA receptor encephalitis in Japan. Long-term outcome without tumor removal. *Neurology* 70 : 504-511, 2008
- 3) Takahashi Y, Mori H, Mishina M, et al. Autoantibodies and cell-mediated autoimmunity to NMDA-type GluR ϵ 2 in patients with Rasmussen's encephalitis and chronic progressive epilepsy partialis continua. *Epilepsia* 46 : 152-158, 2005

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (2010/4/1~2011/3/31 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

3. その他

なし

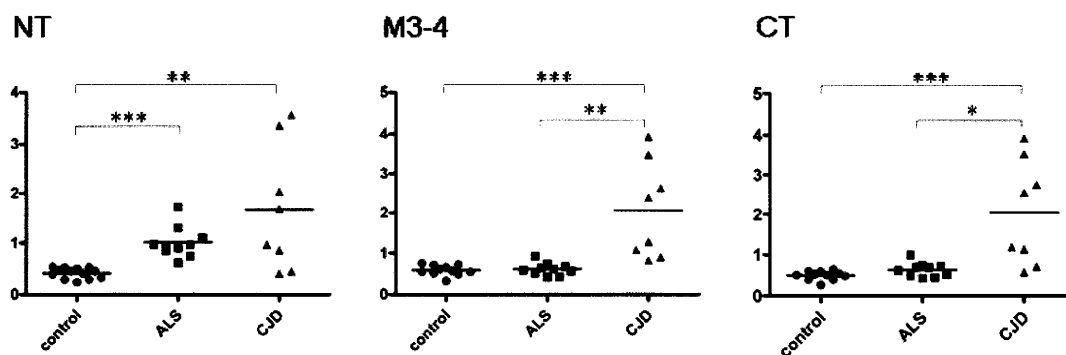


図1 血清における抗 GluRε2 抗体(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

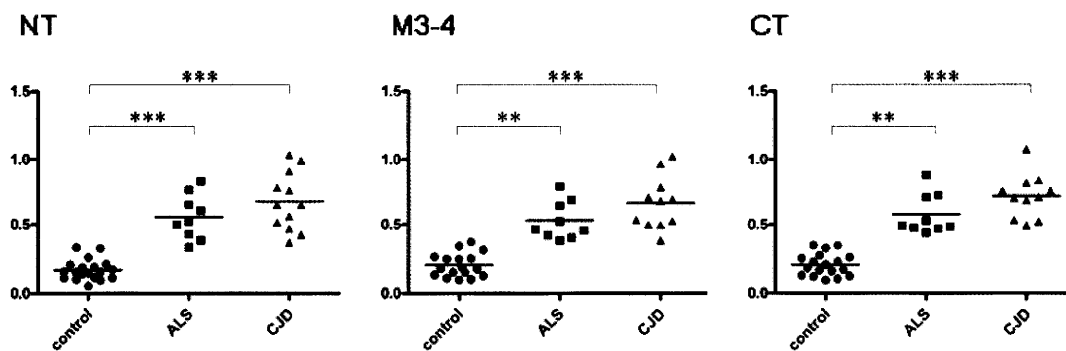


図2 髄液における抗 GluRε2 抗体(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

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

分担研究者：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

前年度に引き続き、ペントサンポリサルフェート(PPS)の脳室内持続投与法の継続を行い、臨床評価および副作用の検討を行った。これまでにヒトプリオン病、11例に同治療を行った。その内訳は孤発性CJD 6例、硬膜移植後CJD 2例、家族性CJD(GSS 1例)3例で、今年度1例が亡くなり、結果として9例が死亡、2例が治療継続となった。11例の治療開始からの経過は4~65ヶ月で、治療前のmodified Rankin Scale(mRS)は2-5で、現在は全例5-6となり症状は進行した。治療継続の2症例は、血液データ上、治療に関連する異常は見られない。この2例を含め、硬膜下水腫が全例に認められた。新規の剖検脳を含め、6例の剖検脳から、異常プリオン蛋白の定量を含め治療による影響を検討中である。これまでのところ、PPS脳室内持続投与は、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

プリオン病は、孤発性、遺伝性、感染性などの原因があり、いずれの病型においても、脳内異常プリオン蛋白がみられ、いったん発症すると進行性、致死性の経過をたどる難病である。この疾患に対する有効な治療薬は発見されておらず、その開発が期待される。実験的に、脳内異常プリオン蛋白の蓄積を防ぐ、薬剤の中で、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確認された薬物である。PPSは血液脳関門を通過せず、脳室内に直接投与する必要がある。本研究では、これまで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ールを作成し、実際にプリオン病患者に対する治療を行った。患者の生命予後改善への効果と安全性の検討を行う。

B. 研究方法

本研究は前年度に引き続き以下の基準で治療研究を継続した。プリオン病の診断は、WHOの診断基準に従った。PPS脳室内持続投与法は、体内埋め込み型微量注入器具(Archimedes®20 ml reservoir, Flow rate 0.5 ml/24h, Codman Inc., Germany)および脳室内カテーテルの留置手術を行った(福岡大学脳神経外科)。PPS脳室内投与用の製剤化と、PPS髄液中濃度測定は福岡大学薬学部疾患管理学教室で行われた。薬剤効果の評価は神経学的所見、日常生活動作、画像所見および脳波所見のフォローを行った。PPS投与は低濃度で開始し、その後、漸増し維持量に到達させる。最終維持濃度は120µg/kg/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した。副作用は血算、生化学、凝固能を定期的に検討した。

(倫理面への配慮)

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、理解を得た上で文書による同意が得ら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が行われた。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

エントリー期間内に 11 例のプリオン病患者に対して治療が開始された(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。病型別では、孤発性 CJD が 6 例、硬膜移植後医原性 CJD が 2 例、家族性 CJD (GSS 1 例を含む) が 3 例であった。11 例の治療開始からの経過は 4~65 ヶ月で、治療前の modified Rankin Scale (mRS) は 2-5 で、現在は全例 5-6 となり症状は進行した。治療継続の 2 症例を含め 4 例は治療開始から 3 年以上の生存期間を示し、生命予後に影響を与えた可能性を示唆した。副作用に関して、周術期において問題はみられなかったが、手術後 3 ヶ月以降、さまざまな程度の硬膜下水腫が全例に認められた。血液データ上、治療に関連する異常は見られなかった。6 例で剖検が得られて、そのうち 1 例の詳細な解析において不溶性プリオンタンパク量がコントロールの脳に比べ少ないことが示されており、同治療において、病理学的にも変化をもたらした可能性を示唆した。

D. 考察

本研究の結果から、プリオン病に対する PPS 脳室内持続投与療法は、機能的な改善は示さないものの、生命予後の改善を示す可能

性を示唆した。英国で同治療を受けた変異型 CJD の生存期間は、その平均をはるかに上回っているという報告もある。我々の検討でも、病型のより治療開始後 3 年以上の長期生存例も存在し、さらに継続中の症例もある。剖検例における、異常プリオン蛋白の蓄積が抑制されている可能性も示唆されている。副作用で全例に硬膜下水腫がみられたが、症状に影響を与えるものではなかった。それ以外は、PPS による血液学的影響は認められておらず、比較的安全で長期治療にも耐えうる治療法であることも確認された。

E. 結論

プリオン病に対する PPS 脳室内持続投与療法は、生命予後の改善、脳内異常プリオン蛋白の蓄積を抑制する可能性が示唆されたが、機能的な改善は示されなかった。安全性の検討では、硬膜下水腫の問題以外に重篤な副作用は認めなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表(2010/4/1~2011/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) 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 treated with intraventricular pentosan polysulphate. *Acta. Neurol. Scand* 121 : 127-130, 2010
- 2) 坪井義夫, 山田達夫. プリオン病に対する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研究. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「プリオン病に対する診断・治療技術開発に関する研究」班. 平成 21 年度総括研究報告

2. 学会発表

- 1) 山田達夫, 坪井義夫, 三嶋崇靖, 樋口正晃, 津川 潤. 髄液中の 14-3-3 蛋白、T a u 蛋白が高値を示した免疫介在性脳症. 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」、「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」平成 22 年度班会議, 東京, 2011.1.17

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表 1 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 (µg/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	50*	3	6
4	64	F	fCJD (V180I)	2005/6/21	120	65*	3	6
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	52	2	5
10	68	M	sCJD	2007/3/7	120	18*	2	6
11	39	F	sCJD	2007/4/3	120	44	4	5

* : dead

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

研究分担者：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)
研究協力者：坂井 健二	金沢大学附属病院神経内科
研究協力者：野崎 一朗	公立能登総合病院神経内科
研究協力者：浜口 毅	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)
研究協力者：森若 文雄	北海道医療大学心理科学部言語聴覚療法学科
研究協力者：志賀 裕正	あおば脳神経外科病院神経内科
研究協力者：三條 伸夫	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)
研究協力者：村山 繁雄	東京都健康長寿医療センター研究所神経病理部門
研究協力者：黒岩 義之	横浜市立大学大学院医学研究科 神経内科学
研究協力者：西澤 正豊	新潟大学脳研究所神経内科
研究協力者：犬塚 貴	岐阜大学大学院医学系研究科神経内科・老年学分野
研究協力者：武田 雅俊	大阪大学大学院医学系研究科 精神医学教室
研究協力者：阿部 康二	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科脳神経内科学
研究協力者：村井 弘之	飯塚病院神経内科
研究協力者：北本 哲之	東北大学大学院プリオン病コアセンター 病態神経学分野
研究協力者：中村 好一	自治医科大学地域医療センター公衆衛生学
研究協力者：太組 一朗	日本医科大学武蔵小杉病院脳神経外科
研究協力者：調 漸	長崎大学保健・医療推進センター
研究協力者：原田 雅史	徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部画像情報医学分野
研究協力者：立石 潤	老人保健施設春風
研究協力者：水澤 英洋	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)

研究要旨

【目的】プリオン病発症と加齢との関連、特に硬膜移植例については感染時年齢と潜伏期間との関連を検討する。【方法】1999年4月から2010年8月までにCJDサーベイランスでプリオン病と判定された症例を対象とした。硬膜移植後CJDは典型例(神経病理学的に非プラーク型の症例、および病理所見の詳細が不明または病理学的評価がなく、かつ発症12ヶ月以内に脳波で周期性同期性放電(PSD)が認められた症例)と非典型例(神経病理学的にプラーク型の症例、および病理所見の詳細が不明または病理学的評価がなく、かつ発症から12ヶ月以上生存して12ヶ月以内の脳波でPSDが認められなかった症例)に分類して検討した。【結果】1552例がプリオン病と判定された。全プリオン病および孤発性CJDでは罹患率は年齢とともに上昇し、70歳代にてピークとなり80歳以上にて減少した。硬膜移植後CJDでは53例が典型群、18例が非典型群に分類された。移植時年齢の平均と移植から発症までの期間で両群間に有意差はなかった。典型例群では移植時年齢と移植から発症までの期間に有意な負の相関を示した。【結論】全プリ

オン病および孤発性 CJD では、年齢ごとの罹患率は年齢とともに上昇して 70 歳代でピークとなり、80 歳代以上にて減少した。硬膜移植後 CJD の典型例では移植時年齢と移植から発症までの期間について有意な負の相関が認められた。

A. 研究目的

プリオン病の年齢ごとの罹患率について、わが国を含めた各国からの報告では年齢とともに上昇して 70 歳代をピークとし、80 歳代以後に減少することが報告されている¹⁾。プリオン病発症と加齢との関連、特に硬膜移植例については感染時年齢と潜伏期間との関連を検討する。

B. 研究方法

1999 年 4 月から 2010 年 8 月までに「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」・CJD サーベイランス委員会による検討の結果、プリオン病と判定された症例を対象とし、その内訳や発症状況を検討した。硬膜移植後 CJD と判定された症例について、典型例(神経病理学的に非プラーク型の症例、および病理所見の詳細が不明または病理学的評価がなく、かつ発症 12 ヶ月以内に脳波で周期性同期性放電(PSD)が認められた症例)と非典型例(神経病理学的にプラーク型の症例、および病理所見の詳細が不明または病理学的評価がなく、かつ発症から 12 ヶ月以上生存して 12 ヶ月以内の脳波で PSD が認められなかった症例)に分類して移植時の年齢と移植から発症までの期間との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

CJD サーベイランスと匿名化した収集データの研究利用については金沢大学医学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1552 例がプリオン病と判定された。孤発性 CJD 1192 例(76.8%)、遺伝性プリオン病

271 例(17.5%)、硬膜移植後 CJD 83 例(5.3%)、変異型 CJD 1 例(0.1%)、分類不能 CJD 5 例(0.3%)だった。全プリオン病および孤発性 CJD について、年齢別の罹患率は年齢とともに上昇し、70 歳代にてピークとなり 80 歳以上にて減少した。硬膜移植後 CJD では 36 例が神経病理学的に診断されており、18 例が非プラーク型、14 例がプラーク型で、4 例では詳細が不明だった。53 例が典型群、18 例が非典型群に分類された。両群について、移植時年齢の平均は典型例群が 42.1 歳、非典型例群が 40.5 歳で両群間に有意差はなかった。移植から発症までの期間は典型群が 15.9 年、非典型群が 13.8 年で有意差はなかった。移植時年齢と移植から発症までの期間との相関では典型例群でのみ有意な負の相関が認められた($p < 0.05$, 図 1)。

D. 考察

全プリオン病および孤発性 CJD における発症年齢の分布について、諸外国からも同様な報告がなされている。高齢発症の認知症症例では正確な診断がなされていない可能性が指摘されているが²⁾、正確な理由は不明である。年齢によるプリオンに対する易感染性の検討について、ヒトにおける報告はなされていないが、高齢で異常プリオン蛋白を感染させたマウスは若年で感染させたマウスより発症までの期間がより長かったと報告されており³⁾、今回の検討と異なる結果であった。しかしながら、発症には感染時の異常プリオン蛋白の量や感染部位などの関連も考えられ、今後も症例の蓄積が必要である。

E. 結論

全プリオン病および孤発性 CJD では、年

年齢ごとの罹患率は年齢とともに上昇して 70 歳代でピークとなり、80 歳代以上にて減少した。硬膜移植後 CJD の典型例では移植時年齢と移植から発症までの期間について有意な負の相関が認められ、高齢で感染した症例ほど潜伏期間が短かった。

[参考文献]

- 1) Nozaki I, Hamaguchi T, Sanjo N, Noguchi-Shinohara M, Sakai K, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Kuzuhara S, Inuzuka T, Takeda M, Kuroda S, Abe K, Murai H, Murayama S, Tateishi J, Takumi I, Shirabe S, Harada M, Sadakane A, Yamada M. Prospective 10-year surveillance of human prion diseases in Japan. *Brain* 133 : 3043-3057, 2010
- 2) Knight R. Creutzfeldt-Jakob disease : a rare cause of dementia in elderly persons. *Clin Infect Dis* 43 : 340-346, 2006
- 3) Avrahami D, Gabizon R. Age-related alterations affect the susceptibility of mice to prion infection. *Neurobiol Aging* (in press).

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表(2010/4/1~2011/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) Nozaki I, Hamaguchi T, Sanjo N, Noguchi-Shinohara M, Sakai K, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Kuzuhara S, Inuzuka T, Takeda M, Kuroda S, Abe K,

Murai H, Murayama S, Tateishi J, Takumi I, Shirabe S, Harada M, Sadakane A, Yamada M. Prospective 10-year surveillance of human prion diseases in Japan. *Brain* 133 : 3043-3057, 2010

- 2) 坂井健二, 山田正仁. 目で見る症例 : Creutzfeldt-Jakob. *内科* 105 : 691-695, 2010
- 3) 篠原もえ子, 坂井健二, 山田正仁. プリオン病. *JOHNS* 26 : 1813-1817, 2010
- 4) 山田正仁. Creutzfeldt-Jakob 病. In : 金澤一郎・永井良三・編. 今日の実験指針 第 6 版, 東京, 医学書院 662-664, 2010
- 5) 山田正仁. 遅発性ウイルス感染症とプリオン病. In : 田村 晃・松谷雅生・清水輝夫・編. EBM に基づく脳神経疾患の基本治療指針 第 3 版, 東京, メジカルビュー 388-389, 2010
- 6) 山田正仁, 篠原もえ子, 浜口 毅, 野崎一朗, 坂井健二. 日本におけるヒト・プリオン病のサーベイランスと疫学的実態. 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 16-21, 2010
- 7) 浜口 毅, 野崎一朗, 篠原もえ子, 山田正仁. 特発性プリオン病(孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病)—臨床病型の特徴と診断のポイント— : MM2 視床型と皮質型. 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 112-118, 2010
- 8) 山田正仁. プリオン病. In : 松田博史・朝田 隆・編. 認知症の画像診断 改訂第 2 版, 大阪, 永井書店 294-307, 2010

2. 学会発表

- 1) Yamada M, Nakamura Y, Takumi I. CJD Surveillance in Japan. European CJD Surveillance Network, Rotterdam, 2010.6.17-18
- 2) Sakai K, Nozaki I, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Sanjo N, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Inuzuka T, Takeda M, Abe K, Murai H, Murayama S, Tateishi J, Shirabe S, Takumi I, Harada M, Yamada M. Human prion diseases in Japan : a prospective surveillance from 1999. Asia-Oceania Symposium on Prion Disease, Sapporo, 2010.7.24-25
- 3) Sakai K, Nozaki I, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Sanjo N, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Inuzuka T, Takeda M, Abe K, Murai H, Murayama S, Tateishi J, Shirabe S, Takumi I, Harada M, Yamada M. Human Prion Disease in Japan. PRION2010, Salzburg, 2010.9.8-11
- 4) Atarashi R, Satoh K, Sano K, Fuse T, Yamanaka H, Yamaguchi N, Ishibashi D, Matsubara T, Nakagaki T, Yamada M, Mizusawa H, Kitamoto T, McGlade A, Collins S, Shirabe S, Katamine S, Nishida N. Ultrasensitive Human Prion Detection in Cerebrospinal Fluids by Real-time Quaking-Induced Conversion. PRION2010, Salzburg, 2010.9.8-11
- 5) Ohara M, Sanjo N, Hizume M, Sakai K, Nozaki I, Hamaguchi T, Nakamura Y, Kitamoto T, Shiga Y, Satoh K, Satoh T, Shirabe S, Yamada M, Tateishi J, Mizusawa H. Genetic Prion Disease in Japan, An Analysis Based on the Japanese CJD Surveillance, 1999-2009. PRION2010, Salzburg, 2010.9.8-11
- 6) 坂井健二, 中村好一, 北本哲之, 佐藤 猛, 水澤英洋, 森若文雄, 志賀裕正, 三條伸夫, 黒岩義之, 西澤正豊, 武田雅俊, 犬塚 貴, 阿部康二, 村井弘之, 村山繁雄, 立石 潤, 調 漸, 太組一朗, 原田雅史, 山田 正. CJD サーベイランスにおける高齢発症プリオン病の検討. 第51回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

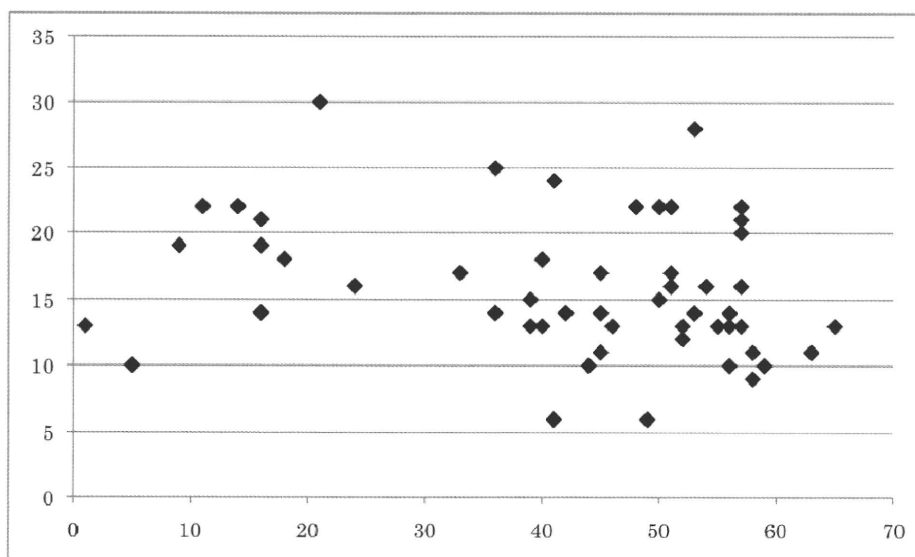


図1 移植時年齢と移植から発症までの期間との関連
 (横軸 移植時の年齢(年)、縦軸 移植から発症までの期間(年))

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

- 研究分担者：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)
研究代表者：水澤 英洋 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科)
研究協力者：大原 麻耶 中野総合病院神経内科
研究協力者：佐藤 克也 長崎大学大学院感染分子解析学
研究協力者：北本 哲之 東北大学大学院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：中村 好一 自治医科大学地域医療学センター公衆衛生学
研究分担者：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)
研究協力者：坂井 健二 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)
研究協力者：森若 文雄 北海道医療大学心理科学部言語聴覚療法学科
研究協力者：志賀 裕正 あおば脳神経外科病院神経内科
研究協力者：村山 繁雄 東京都老人総合研究所高齢者脳ケノム(神経病理学)
研究協力者：黒岩 義之 横浜市立大学大学院医学研究科 神経内科学
研究協力者：西澤 正豊 新潟大学脳研究所神経内科
研究協力者：犬塚 貴 岐阜大学大学院神経内科・老年学分野
研究協力者：武田 雅俊 大阪大学大学院医学系研究科 精神医学
研究協力者：阿部 康二 岡山大学大学院神経内科学
研究協力者：村井 弘之 飯塚病院神経内科
研究協力者：太組 一郎 日本医科大学武蔵小杉病院脳神経外科
研究分担者：調 漸 長崎大学保健・医療推進センター
研究協力者：立石 潤 老人保健施設春風
研究協力者：佐藤 猛 東大和病院神経内科
研究協力者：原田 雅史 徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部画像情報医学分野

研究要旨

1999年4月から2010年2月までのCJDサーベイランス委員会において検討された遺伝性プリオン病の各病型の症例のうち、保存髄液が残っている症例で測定可能な検体を標準化手法による14-3-3蛋白測定法により再測定値、tau蛋白測定値、QUIC法による髄液中の異常蛋白の有無について新規に測定し、それらの値と臨床経過や進行速度、海馬・側頭葉・後頭葉の脳切片免疫染色の主要所見を比較検討したところ、髄液中の14-3-3蛋白やtau蛋白の定量値は、罹病期間と負の相関傾向を示していた。このことは神経細胞の障害(破壊)の程度を反映していると思われ、結果として遺伝性プリオン病の進行速度を反映していると思われた。決定係数と分散分析のデータでは無動無言までの期間より、死亡までの期間の方が相関性が高かった。発症年齢に関しては正の相関傾向を示したり、60歳前後のピーク値を示すなど、14-3-3蛋白やtau蛋白との関連性は無いと思われた。髄液中の異常プリオン蛋白に関しては、測定数が少なく、統計学的に

有意差を求めるのは困難であった。剖検脳において沈着した異常プリオン蛋白量や海綿状変化の程度の半定量は困難であり、解析は行えなかった。タイプ別の比較ではシナプス型沈着タイプは、プラーク型沈着タイプに比べ、罹病期間は短かったが、発症年齢が有意に高齢であったことより、プラーク型は早期に症状をきたすような細胞障害をきたすが、広範囲な細胞障害へ進展するまでには時間がかかることが推測された。

A. 研究目的

我が国の遺伝性プリオン病は欧米のものと比較すると、遺伝子変異の種類による頻度が異なっていることが知られている。昨年度の本研究報告書にて、1999年4月より続けられている我が国のサーベイランスが平成21年で10年となることより、すでに報告されている1993年から10年間のEUROCIDプロジェクトにおける遺伝性プリオン病に関するデータとの比較した結果を報告した。本年度はわが国の遺伝性プリオン病の各病型における髄液生化学マーカーである14-3-3蛋白、tau蛋白、およびQUIC法による異常プリオン蛋白の定量値・定性所見と各病型の臨床経過や進行速度、脳切片の免疫組織染色所見を比較検討した。

B. 研究方法

1999年4月から2010年2月までのCJDサーベイランス委員会において検討された遺伝性プリオン病の各病型の症例のうち、保存髄液が残っている症例で測定可能な検体を標準化手法による14-3-3蛋白測定法により再測定値、tau蛋白測定値、QUIC法による髄液中の異常蛋白の有無について新規に測定し、それらの値と臨床経過や進行速度、海馬・側頭葉・後頭葉の脳切片免疫染色の主要所見を比較検討し、髄液14-3-3蛋白濃度、あるいは髄液tau蛋白濃度と発症年齢、あるいは罹病期間を死亡までと無動性無言までの期間の両者に対して単回帰分析を行い決定係数(r^2)を算出した後、分散分析にてデータのばらつきを評価した(p)。更に病理学的所見を可能な限り半定量化を試みて、同様に回帰分析を

試みた。異常プリオン蛋白の沈着パターンによる罹病期間の差に関してt検定を行った。(同一症例における検討ではない)

(倫理面への配慮)

当研究における匿名化された個人情報を含む研究結果の発表に関しては、サーベイランス事務局のある金沢大学医学部倫理審査委員会の審査承認を受けている。

C. 研究結果

P102L、P105L、V180I、E200K、M232Rの各病型の髄液検査の結果と発症年齢、死亡までの期間、無動性無言までの期間、主な病理所見を表1にまとめた。

1. 髄液バイオマーカー

14-3-3蛋白の定量値は、罹病期間と負の相関傾向を示しており(図1、2)、興味深いことに決定係数と分散分析のデータでは無動性無言までの期間($r^2 = 0.50$ 、 $p = 0.11$)より、死亡までの期間($r^2 = 0.63$ 、 $p = 0.06$)の方が相関性が高かった。tau蛋白でも同様の負の相関性が無動性無言までの期間($r^2 = 0.06$ 、 $p = 0.64$)と死亡までの期間($r^2 = 0.16$ 、 $p = 0.44$)に認められたが、決定係数は非常に低値であった。発症年齢に関しては正の相関傾向が14-3-3蛋白($r^2 = 0.23$ 、 $p = 0.33$)、tau蛋白($r^2 = 0.19$ 、 $p = 0.39$)共に認められたが、やはり決定係数は非常に低かった。QUIC法で測定した髄液中の異常プリオン蛋白に関しては測定数が少なく、統計学的に有意差を求めるのは困難であったが、髄液中の異常プリオン蛋白の陽性率が高いほど発症年齢が若く、罹病期間は短い傾向にあった(図3)。

2. 病理所見

剖検脳において沈着した異常プリオン蛋白量や海綿状変化の程度の定量は困難であり、解析は行えなかった。シナプス型沈着タイプ群とプラーク型沈着タイプ群の解析では、シナプス型沈着タイプが統計学的に有意に、発症年齢が高齢で、罹病期間が短かった(図 4. *** $p < 0.001$)。

D. 考 察

14-3-3 蛋白の定量値は、罹病期間と負の相関傾向を示していた。これは神経細胞の障害(破壊)の程度を反映していると思われ、結果として遺伝性プリオン病の進行速度を反映している可能性がある。tau 蛋白でも同様の結果が認められていたが、14-3-3 程の強い相関性は認めなかった。このことは 14-3-3 蛋白と tau 蛋白では、細胞障害に際して別々の行程に関与している可能性を示唆している。

発症年齢に関しては、正の相関傾向を示したり、60 歳前後のピーク値を示すなど、14-3-3 蛋白や tau 蛋白との関連性は無いように見え、発症年齢には何らかの別の因子の関与が疑われた。

発症年齢に関与している因子として、測定した症例数が少なかったため、統計学的な解析は困難であったが、QUIC 法による髄液中の異常プリオン蛋白の定性の結果からは、陽性率と蛋白量に関連性があるならば、髄液中の異常プリオン蛋白量は遺伝性プリオン病における発症年齢に関連した因子の可能性はある(細胞死がおこる前に機能障害がおこっているなど)と思われた。

剖検脳に関しては、従来から孤発性や医原性で報告されているように、シナプス型の沈着を示すタイプの方が進行が早かった。発症年齢に関してはプラーク型の方が有意に若かったことよりプラーク型の沈着は早期に細胞障害を起こすが、広範囲の障害をおこすには時間がかかる可能性が疑われた。

E. 結 論

罹病期間に関する解析では、髄液バイオマーカーである 14-3-3 蛋白や tau 蛋白は遺伝性プリオン病の病勢、罹病期間をある程度反映しているものと思われた。発症年齢に関連する因子としては髄液中の異常プリオン蛋白の陽性率に相関が疑われた。剖検の切片の解析から、プラーク型沈着タイプはシナプス型沈着タイプに比べて発症年齢が若く、進行が遅かった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表(2010/4/1~2011/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) 三條伸夫, 水澤英洋. プリオン病 — 本邦の特徴と診断のポイント —. 臨床神経学 50(5) : 287-300, 2010
- 2) 三條伸夫, 水澤英洋. 神経診察法の基本とピットフォール 認知機能. クリニカル・ニューロサイエンス 28(10) : 1092-1093, 2010
- 3) 三條伸夫, 志賀裕正, 佐藤克也, 山田正仁, 水澤英洋. 知っておきたい認知症の臨床と画像 疾患各論 13) プリオン病. 臨床放射線 55 巻臨時増刊号, 1523(223)-1539(239)
- 4) Nozaki I, Hamaguchi T, Sanjo N, Sakai K, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Kuzuhara S, Inuzuka T, Takeda M, Kuroda S, Abe K, Murai H, Murayama S, Tateishi J, Takumi I, Sirabe S, Harada M, Yamada M. Prospective 10-years surveillance for human prion diseases in Japan. Brain 133(10) : 3043-3057, 2010

- 5) 三條伸夫, 佐々木真理, 水澤英洋, プリオン病画像小委員会. 脳外科手術による CJD リスク保因可能性者事例の経過と注意すべきプリオン病画像診断のポイント. CI 研究 31(4) : 233-239, 2010

2. 学会発表

- 1) 三條伸夫, 久保寺隆行, 渡邊睦房, 石橋哲, 横田隆徳, 水澤英洋. 遺伝性プリオン病(GSS P105L)類似の臨床症状を呈した家族性アルツハイマー病(PSEN : I143T)の臨床像. 第 29 回日本認知症学会総会, 名古屋, 2010.11.5-7
- 2) Ohara M, Sanjo N, Nozaki I, Hamaguchi T, Hizume M, Nakamura Y, Kitamoto T, Shiga Y, Satoh K, Satoh T, Shirabe S, Yamada M, Tateishi J, Mizusawa H. Genetic Prion disease in Japan, An analysis based on the Japanese CJD Surveillance, 1999-2009. Prion 2010, Salzburg, Austria, 2010.9. 8-11
- 3) Sakai K, Nozaki I, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Sanjo N, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Inuzuka T, Takeda M, Abe K, Murai H, Murayama S, Tateishi J, Shirabe S, Takumi I, Harada M,

Yamada M. Human prion diseases in Japan : a prospective surveillance from 1999. Asia Oceania Symposium on Prion Disease 2010, Sapporo, 2010.7. 24-25

- 4) 沼沢祥行, 新谷周三, 三木一徳, 石原正一郎, 堀 匠, 三條伸夫, 水澤英洋. 孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病 7 例における臨床診断の検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
- 5) 坂井健二, 野崎一朗, 中村好一, 北本哲之, 佐藤 猛, 水澤英洋, 森若文雄, 志賀裕正, 三條伸夫, 黒岩義之, 西澤正豊, 武田雅俊, 犬塚 貴, 阿部康二, 村井弘之, 村山繁雄, 立石 潤, 調 漸, 太組一朗, 原田雅史, 山田正仁. CJD サーベイランスにおける高齢発症プリオン病の検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 我が国の主な遺伝性プリオン病のバイオマーカー値と病理所見

Mutated codon	P102L	P105L	V180I	E200K	M232R (rapid)	M232R (slow)
14-3-3 定性 (%)	2/8(25)	0/2 (0)	40/57(70.1)	13/15(86.6)	6/11(54.5)	4/5(80.0)
14-3-3 定量 (μg/ml)	448.6±792.3	397.0±561.4	2304±3275	3523±3239	1170±1126	1730±1200
total tau 定量 (pg/ml)	2198±3111	711±214	4044±5628	11985±16863	15184±18117	4311±3128
PrP ^{Sc} positive by QUIC (%)	4/4(100)	NE	1/5(20)	1/2(50)	1/2(50)	1/1(100)
age at onset	54.4±12.1	41.6±8.0	76.6±7.4	58.6±9.6	67.2±6.7	57.3±20.0
duration (death) (months)	53.1±31.5	132±74.2	21.5±17.6	12.5±11.3	19.8±26.0	19.8±26.0
duration (akinetie mutism) (months)	27.9±27.8	113±10.6	10.1±6.8	3.1±2.6	2.8±1.7	17.7±3.7
PrP ^{Sc} deposition	plaque	plaque	synaptic	synaptic	synaptic	plaque
PrP ^{Sc} immunoreactivity	++	++	equivocal	++	++	++
spongiosis	+	-	+++	+	+	+

症例数の少ない変異例と髄液測定ができなかった変異例は除外した。

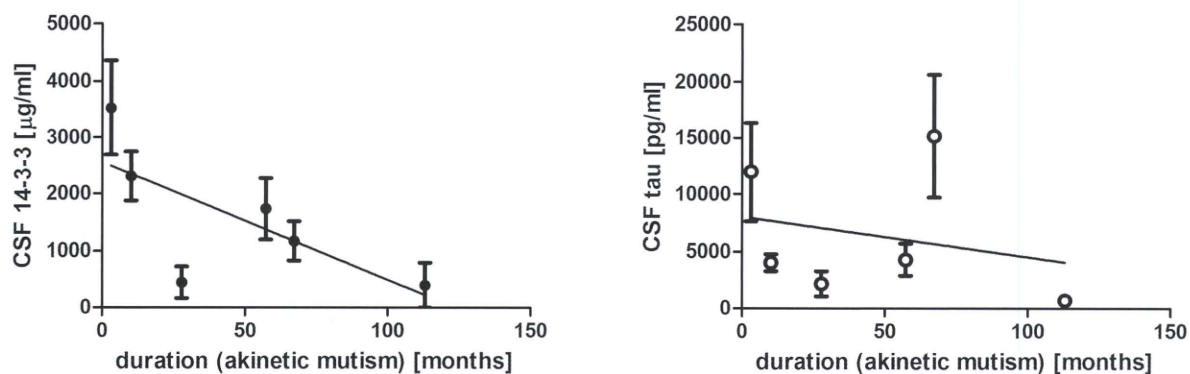


図1 髄液 14-3-3 と罹病期間(akinetie mutismまでの期間)には負の相関傾向があった

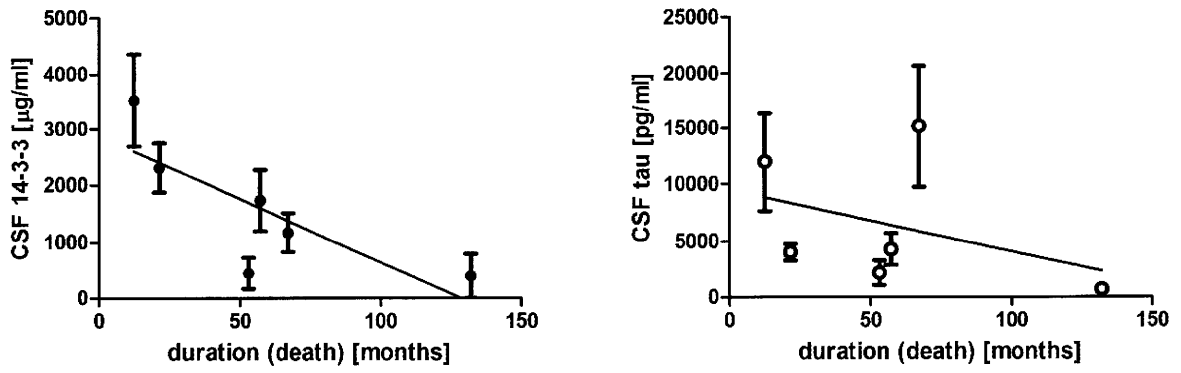


図2 髄液 14-3-3 と罹病期間(死亡までの期間)には負の相関傾向があった

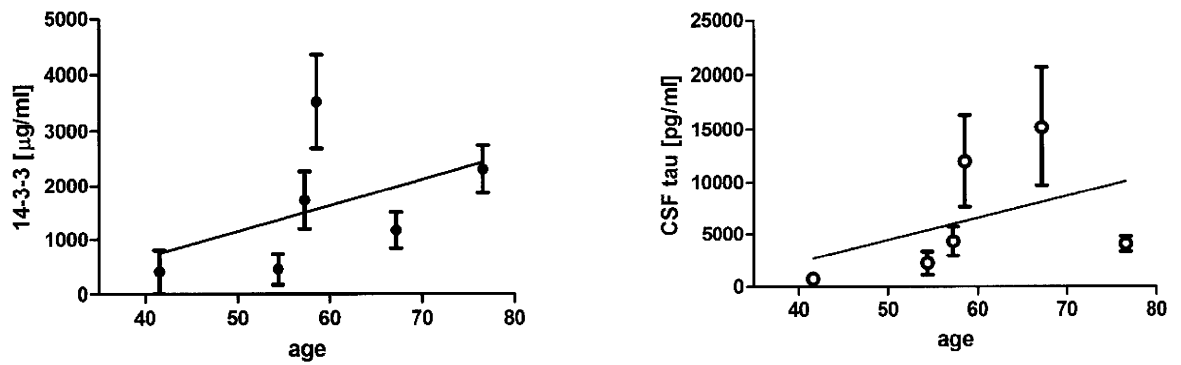


図3 髄液バイオマーカーと発症年齢には正の相関傾向が疑われた

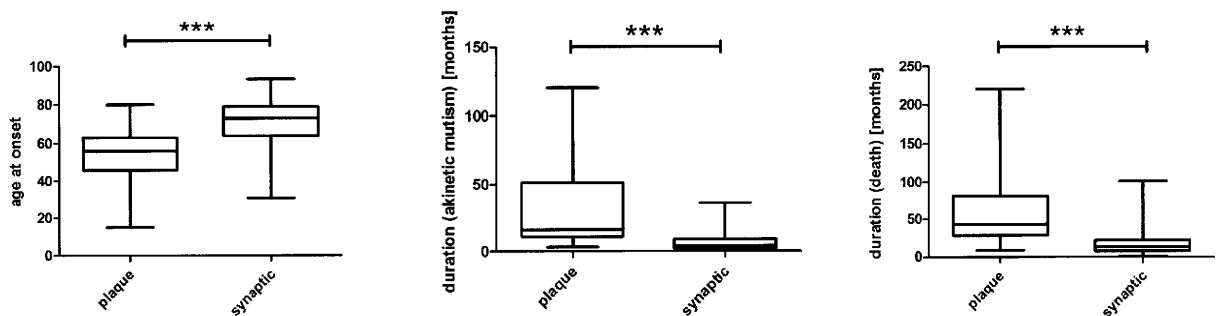


図4 プラーク型の病理変化を呈するタイプは若年発症で経過が長かった

ヌードマウス脳内に持続感染した麻疹ウイルスの検討

研究分担者：細矢 光亮 福島県立医科大学・医学部・小児科学講座

研究協力者：阿部 優作 福島県立医科大学・医学部・小児科学講座

研究協力者：橋本 浩一 福島県立医科大学・医学部・小児科学講座

研究要旨

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)は、麻疹ウイルス変異株(SSPE ウイルス)の中枢神経への持続感染により引き起こされるが、麻疹ウイルスが SSPE ウイルスへと変化する機序に関しては未だ明らかではない。麻疹ウイルスの脳内での変化を明らかにするために、ヌードマウスに麻疹 Edmonston 株を脳内に接種し、体重減少がみられたマウスを屠殺し脳を摘出した。摘出した脳の病理標本において、神経細胞(神経細胞体・軸索)に抗麻疹ウイルス N 蛋白抗体での免疫染色の陽性所見が全脳性にみられた。脳ホモジナイズ液からは、接種量の 0.4~400 倍のウイルスが検出された。脳ホモジナイズ液中の麻疹ウイルスの M 遺伝子のシーケンスを行ったところ、多くの uridine から cytosine への変異をもつクローンがみられた。これらの変異は、麻疹ウイルスが SSPE ウイルスへ変化する過程と関連すると考えられた。

A. 研究目的

亜急性硬化性全脳炎(Subacute Sclerosing Panencephalitis ; SSPE)は麻疹ウイルス変異株(SSPE ウイルス)の中枢神経への持続感染により、高度の認知障害、植物状態を呈し、死に至る遅発性ウイルス感染症である。SSPE ウイルスには、M や F 遺伝子などに多くの変異が認められているが(1)、麻疹ウイルスが SSPE ウイルスへと変化する詳細な機序に関しては現在のところ明らかではない。麻疹ウイルスを正常なマウスに脳内接種しても感染が成立せず、発症しないが、ヌードマウスを用いると、持続感染するという報告がある(2)。今回我々は、この報告に基づき、ヌードマウス脳内に感染した麻疹 Edmonston 株について解析した。

B. 研究方法

①ウイルス、細胞、培地

SSPE ウイルスは SSPE 臨床分離株(Yamagata-1 株)を用いた。Vero 細胞は 10% 血清 FCS 加 MEM 培地で、Vero/SLAM 細胞は九州大学 柳雄介教授より分与して頂き、10%血清 FCS、G418(0.4mg/ml)加 MEM 培地を用い培養した。

SSPE ウイルス、脳ホモジナイズ液から採取されたウイルスの感染実験には、トリプシン処理により分散した感染細胞浮遊液を用いた。

また、ウイルス価は単層形成した非感染 Vero/SLAM 細胞を用い、72 時間後のプラーク数により決定した。

②動物、感染

Ohuchi らの報告(1)をもとに、4 週齢のヌードマウスに、SSPE ウイルス 250 PFU/30uL(I 群)、Edmonston 株 40000PFU/30uL(II 群)を、2 段針を用いて頭蓋骨下(脳内)に接種した。連日体重を測定し、20%以

上の体重減少がみられた個体を屠殺し、脳摘出後、病理標本を作製した。また、Ⅱ群に関しては、ウイルス学的検討も行った。

さらに、Ⅱ群の脳ホモジナイズ液を Vero 細胞で 1 代継代した後、得られたウイルス感染細胞浮遊液 10000PFU/30uL(Ⅲ群)を 4 週齢のヌードマウスに接種し、観察した。

③病理学的検討

採取した脳を 10%ホルマリンで固定後、パラフィンブロックを作成した。5um 薄切切片に HE 染色、及び抗麻疹ウイルス N 蛋白ポリクロナール抗体(Covalab, pab0035)による免疫染色を行い、病理学的に検討した。

④ウイルス学的検討

20%以上の体重減少がみられ瀕死となったマウスの脳ホモジナイズ液を作製し、Vero/SLAM 細胞を用いプラークアッセイを行った。

さらにウイルスゲノムをクローニングし、M 蛋白 coding 部分についてシーケンスを行った。接種した Edmonston 株、Ⅲ群のウイルスについても、シーケンスを行い、比較検討した。

C. 研究結果

①脳内接種後の経過

I 群は、10 日後頃より体重減少がみられ、2 週間で全て死亡または屠殺した。Ⅱ群は、8 週頃より体重減少がみられ、14 週までには全て死亡または屠殺した。Ⅲ群は、8 週から 12 週に死亡または屠殺した。

②病理像

HE 染色においては、I 群、Ⅱ群共に、明らかな空胞変性、グリオーシスなどの所見は認められなかった。

免疫染色では、I 群、Ⅱ群共に神経細胞(神経細胞体・軸索)に陽性所見がみられ、皮質、海馬、小脳など全脳性に所見がみられた。

③プラークアッセイ

Ⅱ群において、初期投与量の 0.4~400 倍

のウイルスが検出された。

④シーケンス

Ⅱ群の最も多くのウイルスが検出された接種後 88 日の脳ホモジナイズ液から得られたウイルスゲノムの M 蛋白 coding 部分 10 クローンのシーケンスを行い、脳内接種前の Edmonston 株と比較した。uridine(U)から cytosine(C)への変異が多くみられ、10 クローン中、開始コドンの欠失、終始コドンの欠失がそれぞれ 4 クローン、早期終始コドンが出現したものが 1 クローンあった。

Ⅲ群のウイルスに対して 10 クローンシーケンスを行ったが、U から C への変異はみられなかった。

D. 考察

SSPE ウイルスと麻疹 Edmonston 株を脳内接種した場合、SSPE ウイルスは少量であっても、早期に体重減少がみられた。病理標本では、両群ともに全脳性に免疫染色陽性所見が認められており、SSPE ウイルスは、特有の強い神経病原性によって早期に感染が広がるものと考えられる。一方、麻疹 Edmonston 株が徐々に神経細胞に感染したのか、ある変異を境に急激に感染が広がったのかは今回の研究では明らかにはならなかった。

SSPE ウイルスを含め、ヒト脳から分離された麻疹ウイルスの M 遺伝子に、多くの U から C への変異が認められるという報告があり(3)、今回我々の研究においても、このような変異が認められた。しかし、ホモジナイズ液中の全てのクローンに認められているわけではないため、脳内で増殖するために必須の変異というよりは、脳内で増殖する場合に有利な変異、あるいは宿主による作用によって起こる変異である可能性が考えられる。Vero 細胞で培養した場合にこの変異をもつクローンが検出されなかったことから、Vero 細胞では増殖しにくい変異であると考えられる。今後さらに詳細に検討する必要があると