

異常型プリオンタンパク試験管内増幅法(RT-QUIC法)とバイオマーカーを用いたヒトプリオン病の髄液診断法の確立

研究分担者:長崎大学大学院医歯薬学研究科 西田教行

＜目的＞ ヒトプリオン病患者髄液中の14-3-3蛋白およびタウ蛋白とRT-QUICの検出感度を、遺伝性を含む様々な病型ごと、採取時期による比較検討を行い、発症早期確定診断法としての有用性を明らかにする

＜髄液検査のまとめ＞

sCJD	本邦(H23)	ドイツ	豪州	韓国
検査検体数	225	40	31	114
累積確定例	22	40	17	4

- ・ 遺伝性プリオン病はV108I型 60例、P102L型 7例、M232R型 14例、E200K型 13例
- ・ 今回初めてRT-QUIC陽性を示した非プリオン病2例(国内1例、韓国1例)を経験した

＜発症から4週以内に採取の髄液＞

Age	sex	14-3-3 γ	tau	RT-QUIC	DWI-abnormal findings
73	m	3,850	2,068	-	positive
67	m	10,814	9,055	positive	positive
76	m	6,772	4,645	positive	positive
80	f	9,850	8,766	positive	positive
63	f	2,987	1,814	-	positive
67	m	3,553	3,055	positive	positive
70	f	3,729	2,841	-	positive
63	m	6,133	3,125	positive	positive
63	m	8,297	3,530	positive	positive

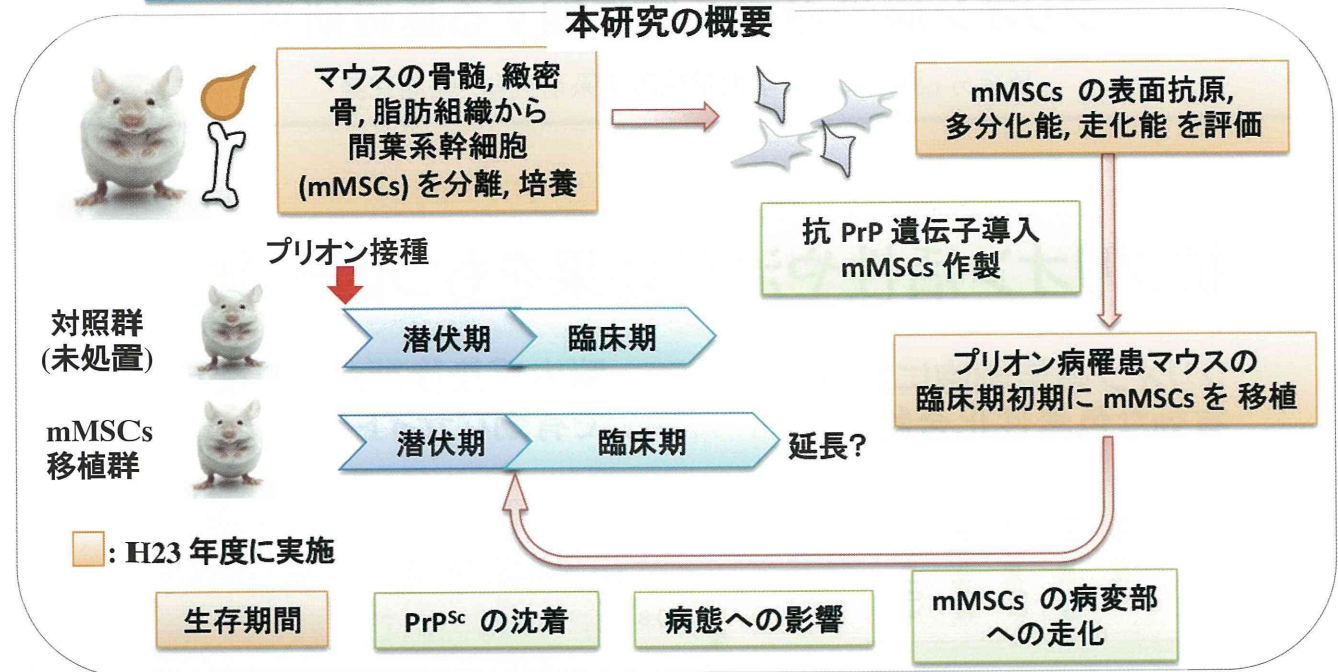
解 説

1. 本年度4月～9月末までの集計では、国内からの髄液検査依頼総数は225件、ドイツ40症例、オーストラリア31例、韓国114例であった。確定例は新規症例を加え延べ国内22症例、ドイツ40症例、オーストラリア17症例、韓国4症例
2. 発症より4週以内に採取された髄液はCJD(確実例)で9検体あり、うち6例では14-3-3, RT-QUICともに陽性であったが、3例ではRT-QUIC陰性であった。髄液検査におけるバイオマーカーは早期確定診断においても有用であることが示唆される。

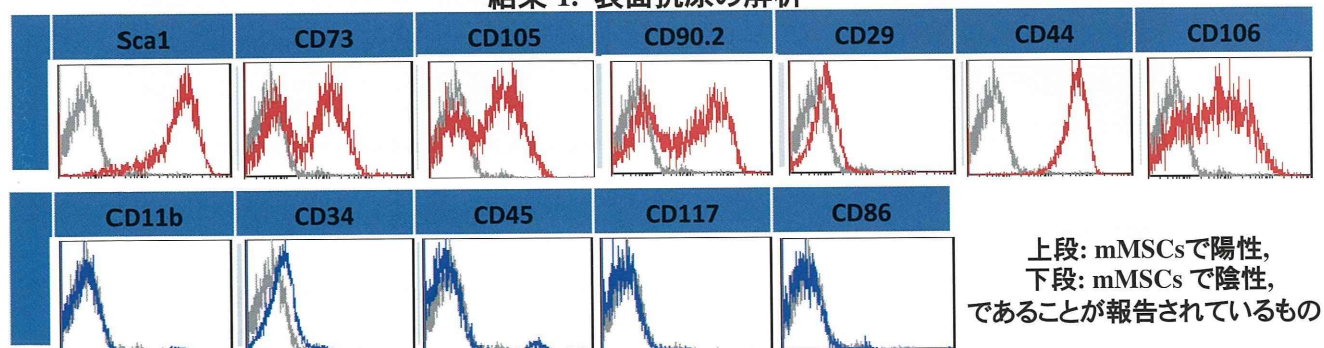
間葉系幹細胞を用いたプリオン病治療モデルに関する研究

研究分担者: 北海道大学 大学院獣医学研究科 長谷部 理絵

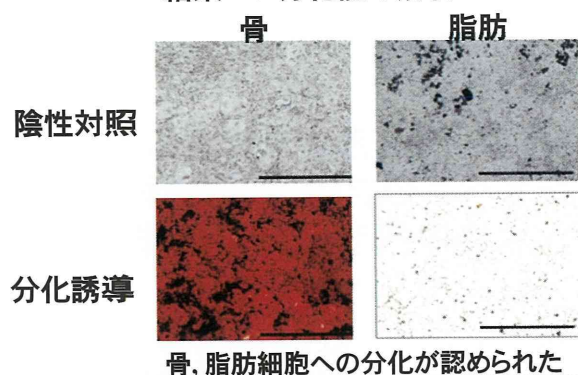
本研究の概要



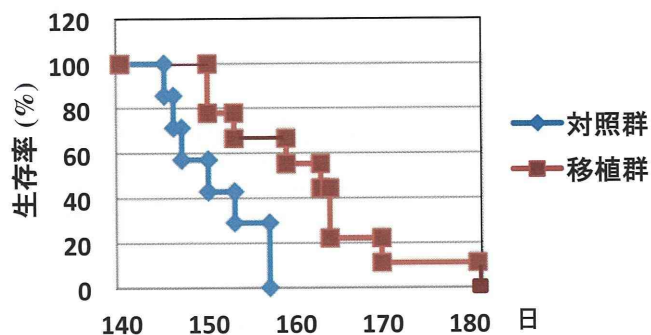
結果 1. 表面抗原の解析



結果 2. 分化能の解析



結果 3. 生存期間の評価 (予備的試験)



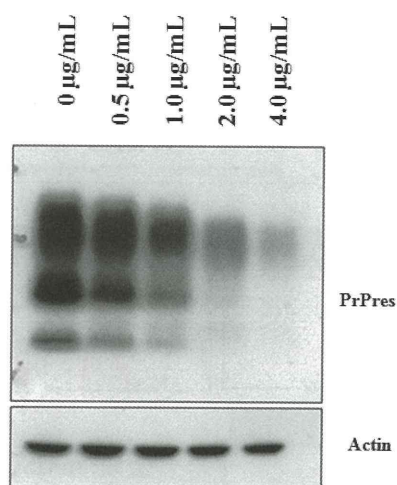
1. マウス組織よりMSCs を分離し, 培養方法を確立した。
2. 分離した細胞は MSCs の特徴を有し, 脳内移植によりプリオン感染マウスの生存期間が延長する傾向が認められた。

プリオン病の治療予防に関する基礎研究

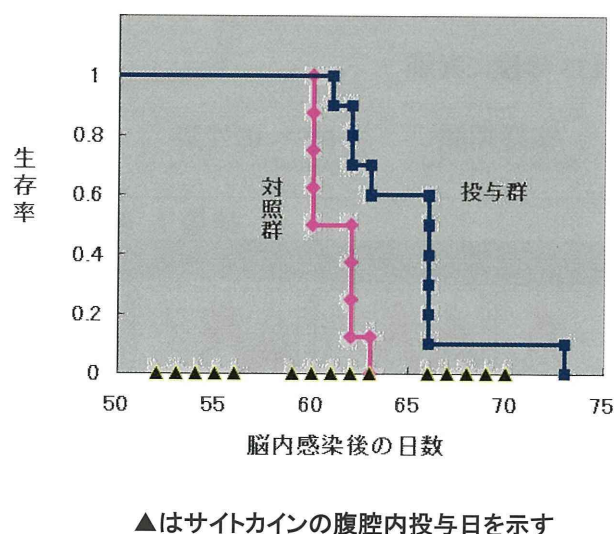
研究分担者：東北大学大学院医学系研究科 堂浦克美

抗プリオン活性や治療効果をもつ因子群

プリオン感染細胞において
有効な色素性化合物



脳内感染後期からの投与
で有効なサイトカイン

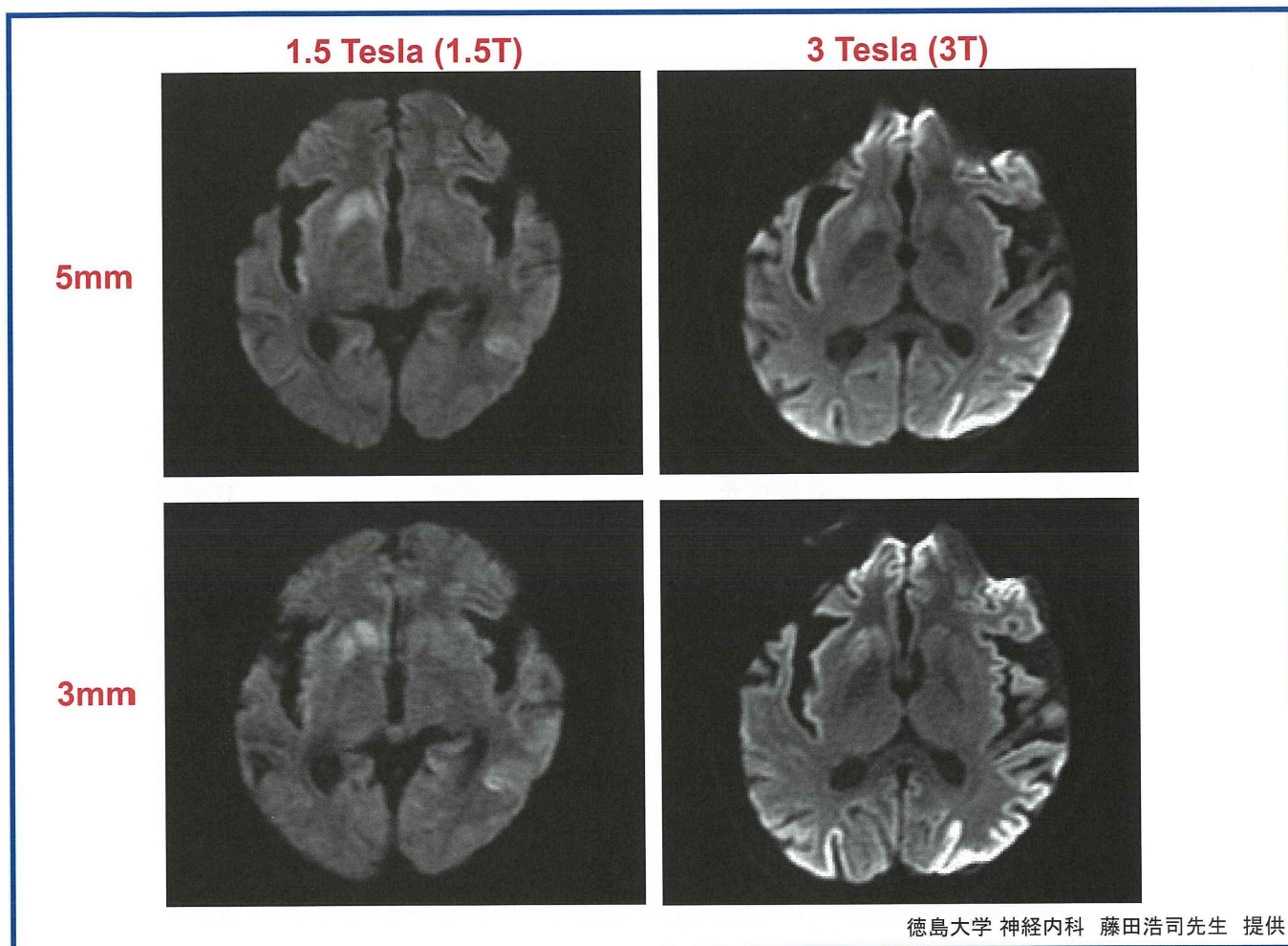


解説

1. プリオン感染細胞において、抗プリオン活性 (PrPres形成を抑える) を発揮する色素性化合物を発見した。検討したすべてのプリオン感染細胞株で、濃度依存的にPrPres形成を抑えた。作用機序解明は今後の課題である。
2. プリオンを脳内感染させた疾患モデル動物において、効果の程度は低いものの感染後期の投与でも有効なサイトカインを発見した。投与量の最適化やプリオン株の影響検討は、今後の課題である。

拡散強調画像のプリオン病診断能(磁場強度・スライス厚による差異)

研究分担者：岩手医科大学医歯薬総合研究所超高磁場MRI診断・病態研究部門 佐々木真理

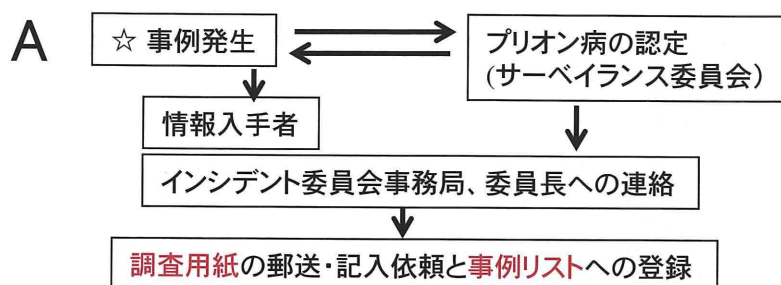


解 説

1. 同一CJD患者を1.5T, 3T MRIを用いて、通常の5mm厚と薄切3mm厚で撮像した。
2. 3Tでは1.5Tに比しアーティファクトや歪みが強く、皮髄境界が明瞭なため、病変か否かの判定が難しい。また、線条体の病変が磁化率効果のため不明瞭化している。
3. 薄切3mm厚で撮像することで、1.5T, 3Tとも病変の描出能が向上する傾向にある。
4. 今後、同一患者を1.5T・3T装置を用いて通常・薄切スライスで撮像したデータを用いた多施設読影実験を実施する予定である。

手術器具を介したCJD二次感染予防リスク者のフォロー

研究分担者: 東京大学脳神経外科 齊藤延人



B

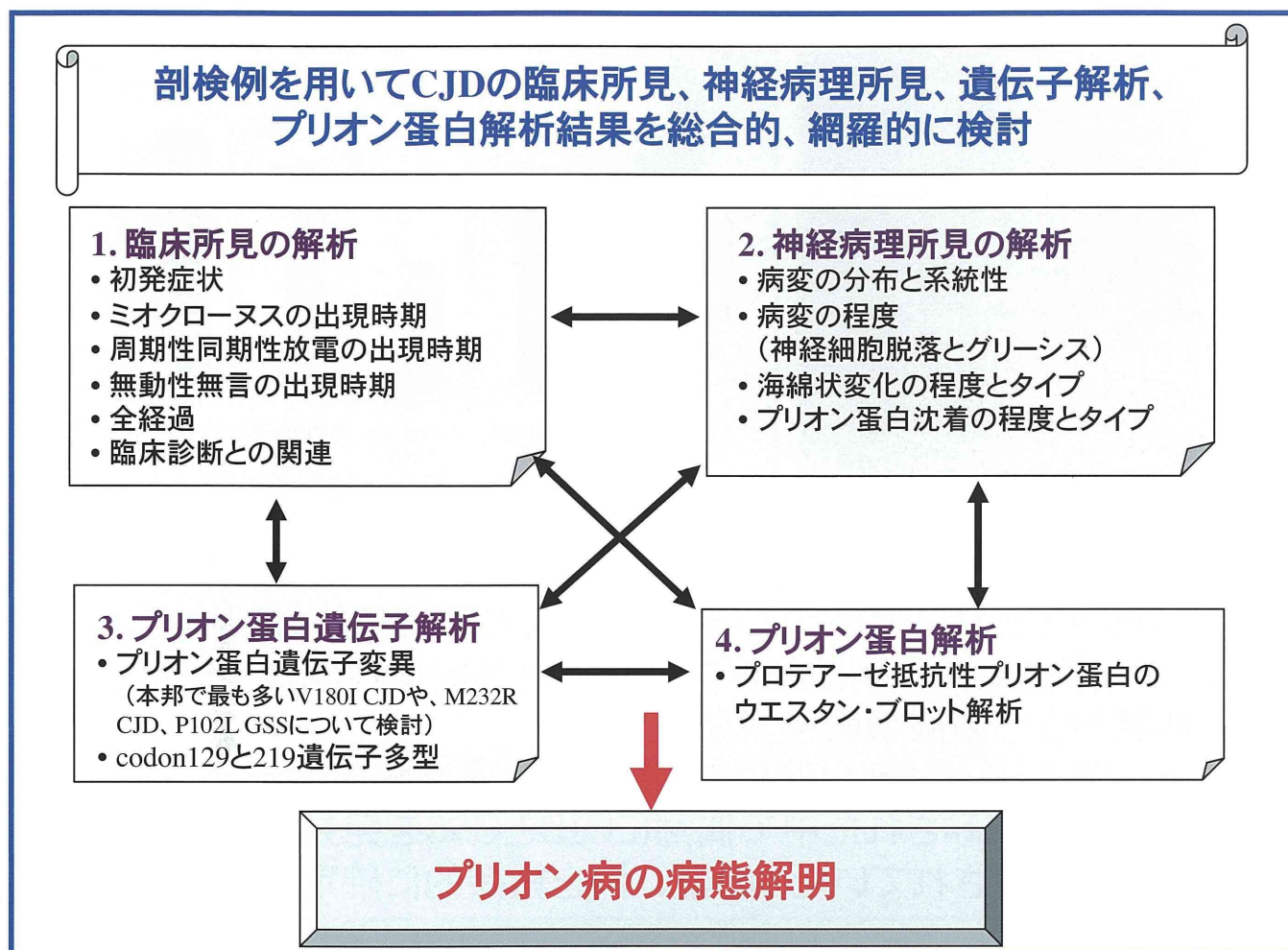
事例	術式	CJDタイプ	リスクの告知
1	クリッピング	sCJD	11名
2	血腫除去	sCJD	10名
3	クリッピング、血腫除去	fCJD	12名
4	脳腫瘍	fCJD	7名
5	脳腫瘍	sCJD	0名
6	血腫除去術(3回)	sCJD	2名
7	CSDH血腫除去術(2回)	sCJD	22名
8	両側CSDH血腫除去術	sCJD	21名
9	調査中		5名
10	血腫洗浄ドレナージ術	fCJD	調査中

解説

1. Aは登録の流れ図。H23年は新規事例はなかった。
2. Bはこれまでの登録概要。これまでに10事例が登録された。
3. 前年度に発生した最終事例の現地調査をH23年に行った。
4. H24年にはフォローアップ状況の更新を行うために、調査依頼を行った。

Creutzfeldt-Jakob病の臨床病理学的検討

研究分担者: 愛知医科大学 加齢医科学研究所 岩崎 靖



解 説

1. 剖検例を用いたCreutzfeldt-Jakob病の臨床診断、臨床経過についての検討

CJDの特徴的な臨床症候の出現時期に欧米CJD例と本邦CJD例で差はなく、本邦CJDに長期経過例が多いのは無動性無動状態に至ってからの長期延命による。典型例での臨床診断は容易であるが、非典型例ではMRIなど各種の検査所見を併せても診断は難しい。

2. Creutzfeldt-Jakob病の病理学的所見についての検討

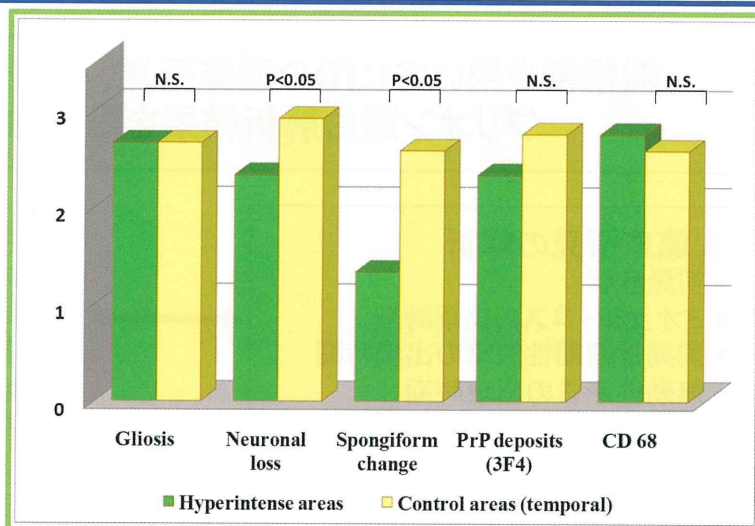
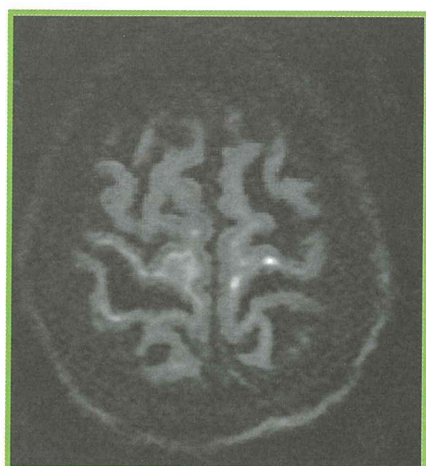
CJDの神経病理学的な表現型および病変選択性と系統性について検討し、PrP遺伝子解析および蛋白レベルでの検討結果を加えて発展させ、包括的なプリオン病の病態解明を行っている。

3. プリオン病ブレインバンクの構築

本邦におけるプリオン病剖検率は低く、貴重な剖検例を多施設で利用できるブレインバンクの構築を検討している。

オートプシーイメージングとプリオン病の神経病理学
プリオン病剖検率の向上のために

研究分担者: 東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク 高尾昌樹



剖検率向上のためへの貢献

1. 剖検ができない他施設から3例を当院の車で搬送し剖検
 - 2例がCJD, 1例は臨床診断CJDだが虚血性脳症
2. 他施設からの剖検脳検索依頼
 - プリオン病疑い4例中, 3例がCJD, 1例は脳血管疾患.
3. 他疾患で依頼された中で偶然にCJDとGSSを発見
4. 施設に保管されていたCJD疑い例を組織的に確定

解説

1. 死亡時MRI拡散強調画像で高信号を呈する部位は中心前回が多く, 同部位は神経細胞脱落や空胞変性はむしろ軽く, 既存データと異なる.
2. 剖検率向上のために, 症例蓄積を積極的に行い, 確定診断をすることで医療関係者, 公衆衛生学的見地からも貢献. 今後は維持費用が問題.

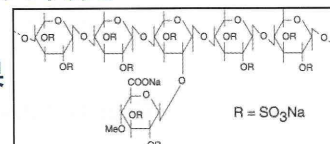
プリオン病に対する体内埋め込み型微量注入器具を用いた ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法

研究分担者：福岡大学医学部神経内科 坪井義夫

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法の開発

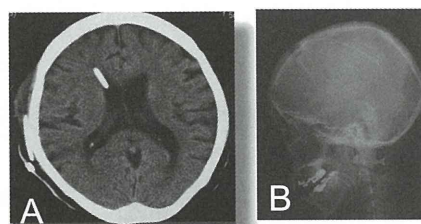
1. ペントサンポリサルフェート(PPS)の構造および特性

ヘパリン類似活性を有し、プリオン感染動物に対する投与で発症遅延効果を認めた。全身投与の安全性が確立されているが、血液脳関門を通過しない。



2. ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法

脳室にカテーテルを留置し(A:CT, B:頭部X-p)、腹部に埋め込んだ持続注入ポンプより24時間脳室内にPPSを注入する方法。



3. 11例の治療成績 *: dead

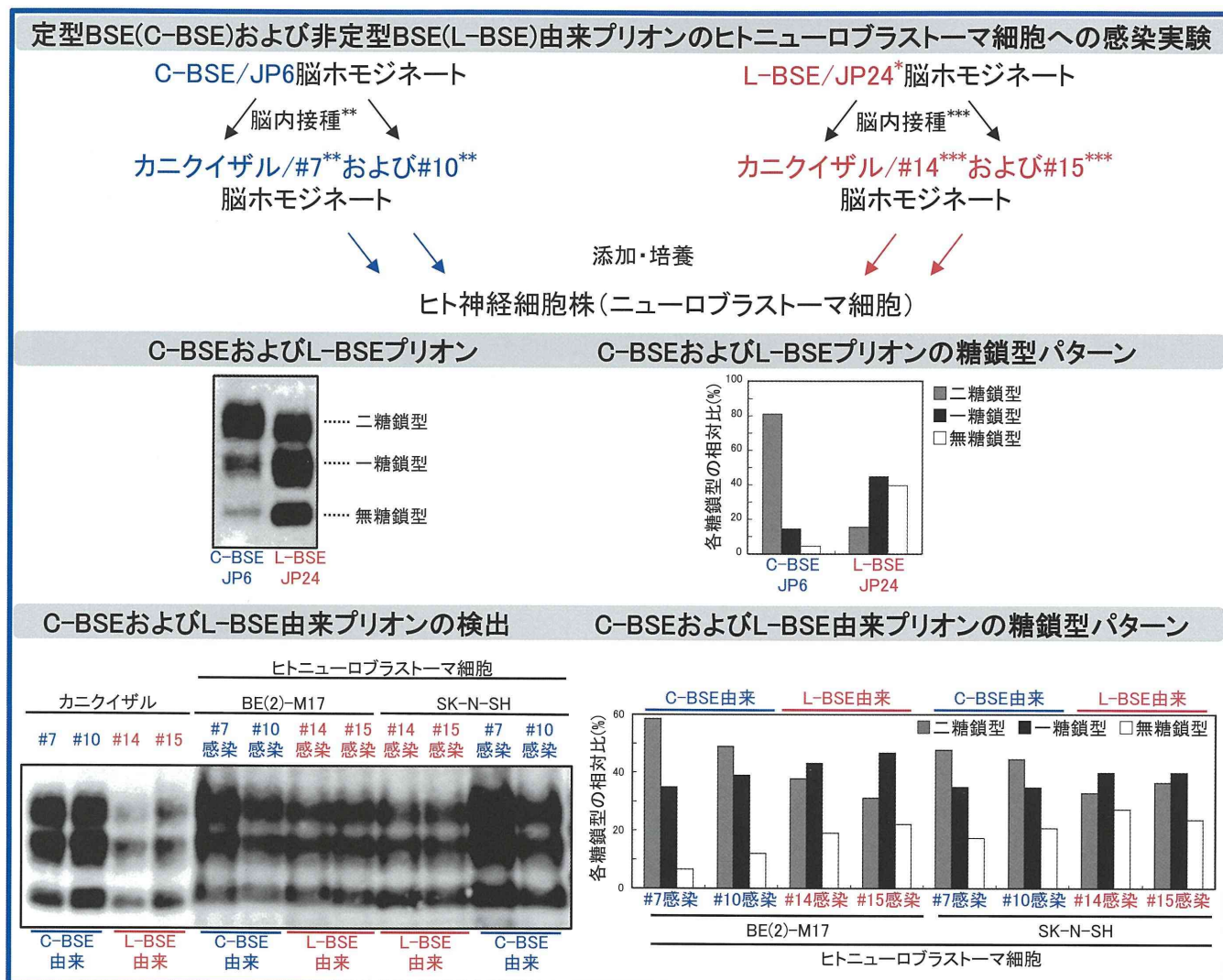
No	Age at surgery	Gender	Diagnosis	Date of Surgery	PPS dose Initial/Final (μg/kg/day)	Duration from the onset (M)	Survival from the surgery (M)
1	67	F	sCJD	2004/11/16	1/120	9	17*
2	73	F	sCJD	2005/3/1	2/120	3	20*
3	68	F	sCJD (MM2)	2005/6/2	10/120	6	50*
4	64	F	fCJD (V180I)	2005/6/21	10/120	4	65*
5	64	F	sCJD	2005/11/14	10/120	3	26*
6	55	M	iCJD	2006/3/13	10/120	10	4*
7	66	M	iCJD	2006/6/12	20/120	3	9*
8	69	F	GSS (P102L)	2006/8/2	20/120	6	14*
9	73	F	fCJD (V180I)	2006/10/15	20/120	7	64
10	68	M	sCJD	2007/3/7	20/120	4	18*
11	39	F	sCJD	2007/4/3	20/120	20	56

解説

1. プリオン病に対するペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法の開発を行い、2004～2007年までに11例に同治療を施行。
2. 5例において術後2年以上の長期生存があり、うち2例はまだ治療継続中である。
3. 不溶性プリオンの定量的解析では、PPS治療を受けた剖検脳はより蓄積が少ない

定型BSEおよび非定型BSEに関する研究 -ヒトニューロblastoma細胞を用いた解析-

研究分担者: 国立感染症研究所・細胞化学部 桶本(中村)優子



解説

1. 定型BSE (C-BSE)および非定型BSE(L-BSE)に感染させたカニクイザルの脳ホモジネートを用い、ヒト神経細胞株(ニューロblastoma細胞)への感染実験を試みた。
2. L-BSEの糖鎖型パターンはC-BSEに比べて一糖鎖型の割合が多いという特徴を有する。
3. ヒトニューロblastoma細胞株BE(2)-M17およびSK-N-SH細胞においてC-BSEおよびL-BSE由来プリオンの感染が成立する可能性が示唆された。また、L-BSE由来プリオンに感染させた細胞ではC-BSE由来プリオンに感染させた細胞に比べ、一糖鎖型の割合が多い傾向にあった。

参考文献 * Hagiwara K. *et al.*, Jpn. J. Infect. Dis. 2007;60:305-308.

** Ono F. *et al.*, Jpn. J. Infect. Dis. 2011;64:50-54.

*** Ono F. *et al.*, Jpn. J. Infect. Dis. 2011;64:81-84.

麻疹ウイルス 脳内接種後のウイルスの性状変化

研究分担者: 福島県立医科大学医学部小児科学講座 細矢光亮

図1. 麻疹ウイルス遺伝子翻訳領域のアミノ酸変異

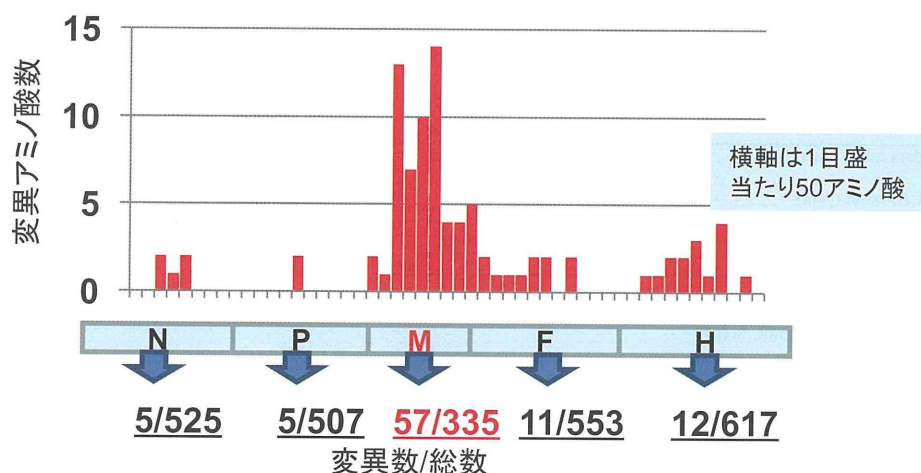
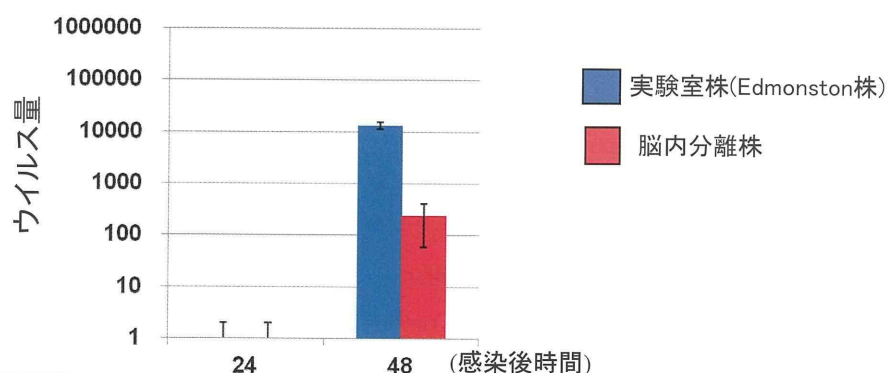


図2. 麻疹ウイルス増殖能の変化

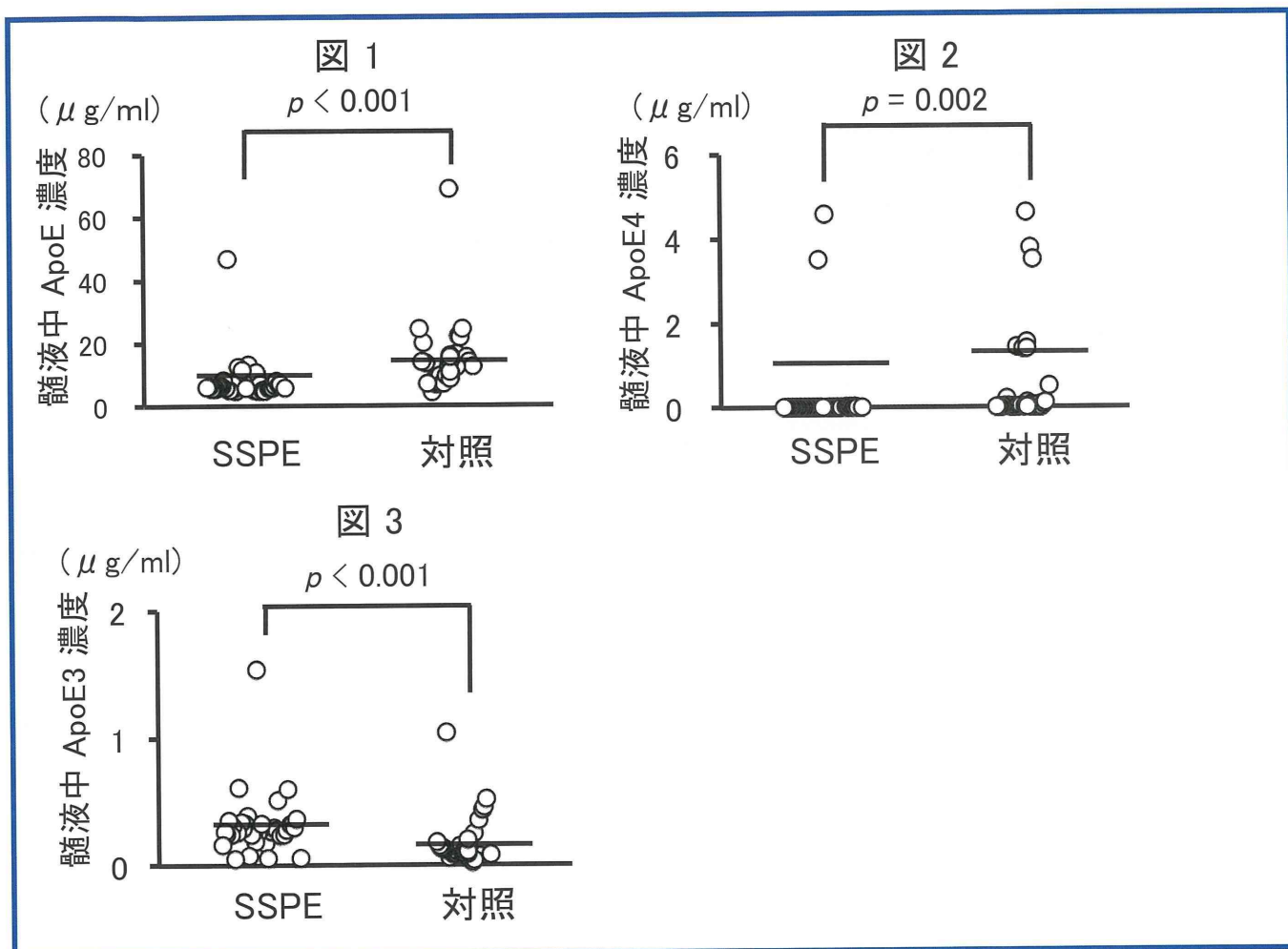


解説

1. ノードマウスに麻疹ウイルス実験室株(Edmonston株)を脳内接種。死亡、あるいは倫理的エンドポイントで個体の脳を摘出し、脳ホモジナイズ液を作製した。その麻疹ウイルスの遺伝子、増殖能をEdmonston株と比較した。
2. N、P、M、F、H遺伝子の翻訳領域を解析では、M遺伝子において最も多くアミノ酸に変異がみられた。(図1)
3. 脳内に持続感染したウイルスは、Edmonston株と比較して、細胞へ感染後の上清のウイルス量は約100分の1に低下していた。(図2)

亜急性硬化性全脳炎患者における髄液中 apolipoprotein E (ApoE) 濃度の検討

研究分担者: 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野 市山高志



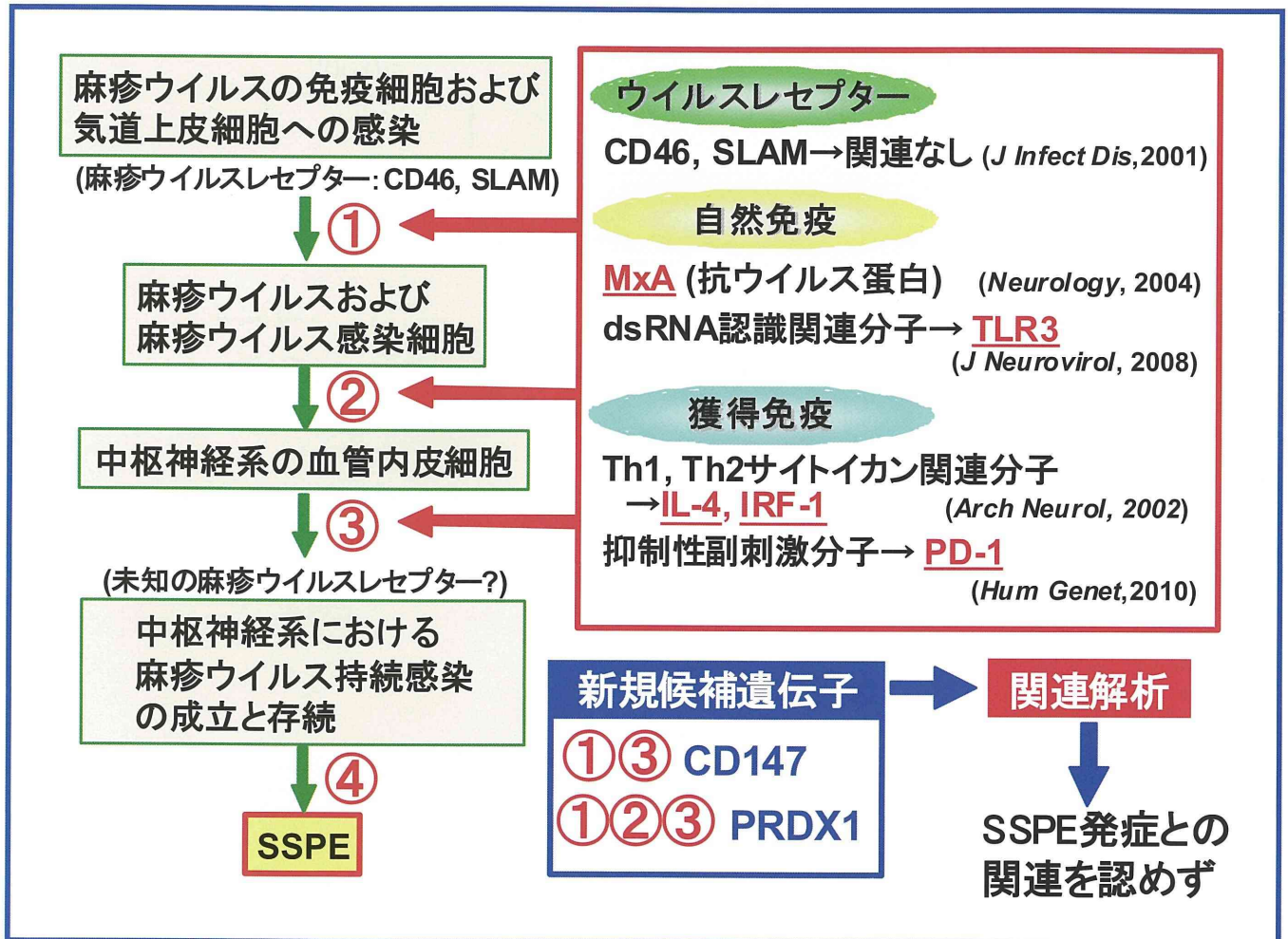
解説

- ・髄液中 ApoE 濃度は SSPE 患者では対照群に比し、有意に低値であった(図1).
- ・髄液中 ApoE4 濃度は SSPE 患者では対照群に比し、有意に低値であった(図2).
- ・髄液中 ApoE3 濃度は SSPE 患者では対照群に比し、有意に高値であった(図3).
- ・Apo E は神経変性疾患の進展に関与すると報告されている. SSPE 患者髄液中の Apo E4 低下および Apo E3 上昇はTauタンパク質の異常リン酸化および神経原線維濃縮体の形成阻害に相補的に作用し, SSPEの病態に関与することが示唆された.

SSPEにおける疾患感受性候補遺伝子の検討

研究分担者:産業医科大学小児科 楠原浩一

(共同研究者:九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 石崎義人, 鳥巢浩幸, 原 寿郎)



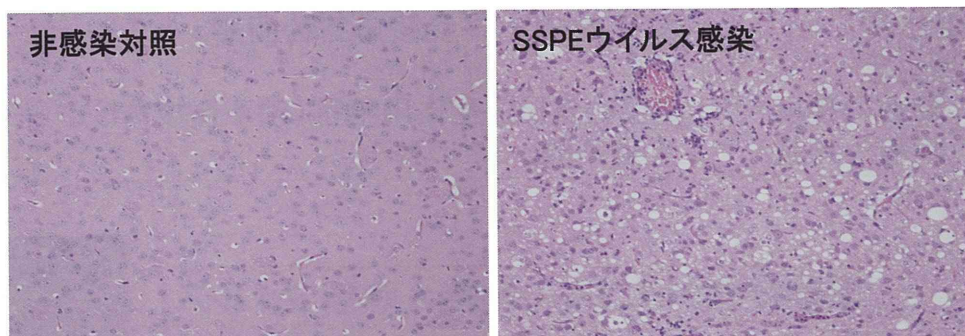
解説

- これまで私たちは、遺伝子多型を用いた関連解析により、自然免疫に関わる遺伝子の中でMxAとTLR3、獲得免疫に関わる遺伝子の中でIL-4、IRF-1とPD-1のバリエーションがSSPEの発症に関与していることを報告してきた。
- 今回、上皮細胞において麻疹ウイルス(MeV)の機能的侵入レセプターとして働いているCD147とMeV RNAの効率的な転写とMeVの複製に必要な細胞因子であるperoxiredoxin 1 (PRDX1)を新規候補遺伝子として関連解析を行ったが、SSPEとの関連を認めなかった。

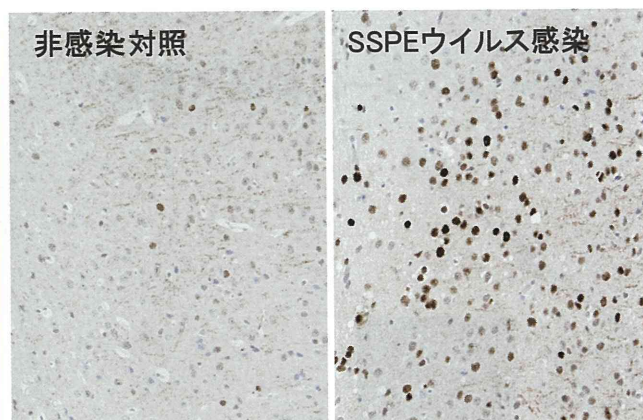
SSPEウイルスによるJNK経路を介したアポトーシスの誘導

研究分担者: 神戸大学大学院医学研究科微生物学 堀田 博

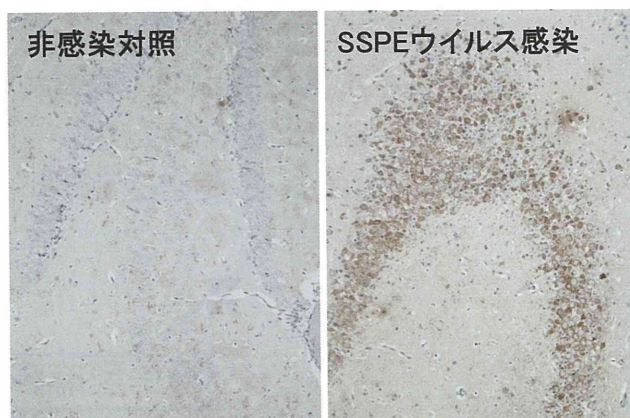
1. 神経細胞死と脳組織の空胞変性



2. JNK/c-Jun経路の活性化



3. caspase-3の活性化



解説

1. SSPEウイルスは神経細胞死と脳組織の海綿状変化をひき起こす。
2. SSPEウイルスは神経細胞のJNK/c-Jun経路を活性化する。
(活性型リン酸化c-Jun陽性細胞の増加が認められる。)
3. SSPEウイルスはアポトーシス実行分子である caspase-3 を活性化する。
(caspase-3陽性細胞の増加が認められる。)

麻疹ウイルスの膜融合能と神経病原性

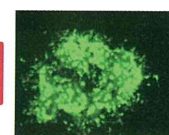
研究分担者: 九州大学大学院医学研究院ウイルス学 柳 雄介

SSPEにおける麻疹ウイルスの変異

M蛋白質	粒子形成なし、免疫応答の回避
F蛋白質	
細胞内領域	M蛋白質と相互作用不可(粒子形成なし)
細胞外領域	意義不明

膜融合能が亢進した組換え麻疹ウイルス

複数のSSPE由来ウイルス株に見られるF蛋白質の変異
SSPEとは無関係のF蛋白質の変異



麻疹ウイルスに対する受容体 (SLAM, nectin 4) を持たない細胞に感染し、合胞体を形成

幼若ハムスターに神経病原性

野生型麻疹ウイルス



解説

1. SSPE患者由来麻疹ウイルスに特徴的な変異はM蛋白質の異常であり、多くの場合ウイルス粒子形成が認められない。他に、F蛋白質やH蛋白質の変異も見られる。
2. 我々は、麻疹ウイルスに対する受容体を持たない細胞で、膜融合による合胞体(巨細胞)を形成するF蛋白質の変異を数種類同定した。これらの一部は、SSPE由来ウイルスに見られる変異である。
3. このような変異を持つウイルスは、野生型のウイルスと異なり、受容体を持たない細胞にも感染して合胞体を形成し、また、幼若ハムスターに神経病原性を示した。
4. M蛋白質の異常よりも膜融合能の亢進が、麻疹ウイルスの神経病原性発現にとって重要であると考えられる。膜融合阻害を標的にした治療法が可能かもしれない。

亜急性硬化全脳炎に対するリバビリン治療の効果

研究分担者: 熊本大学医学部附属病院発達小児科 野村恵子

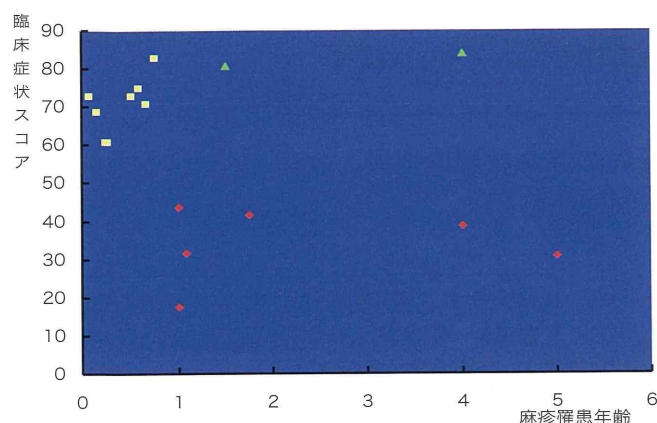


図1.麻疹罹患年齢と臨床症状スコア

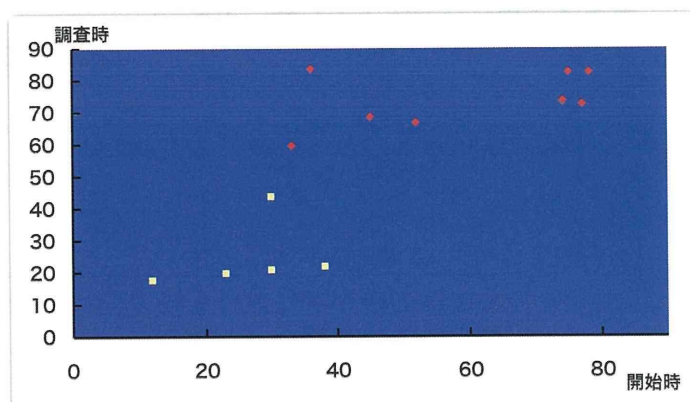


図2.治療開始時と調査時の臨床症状スコア

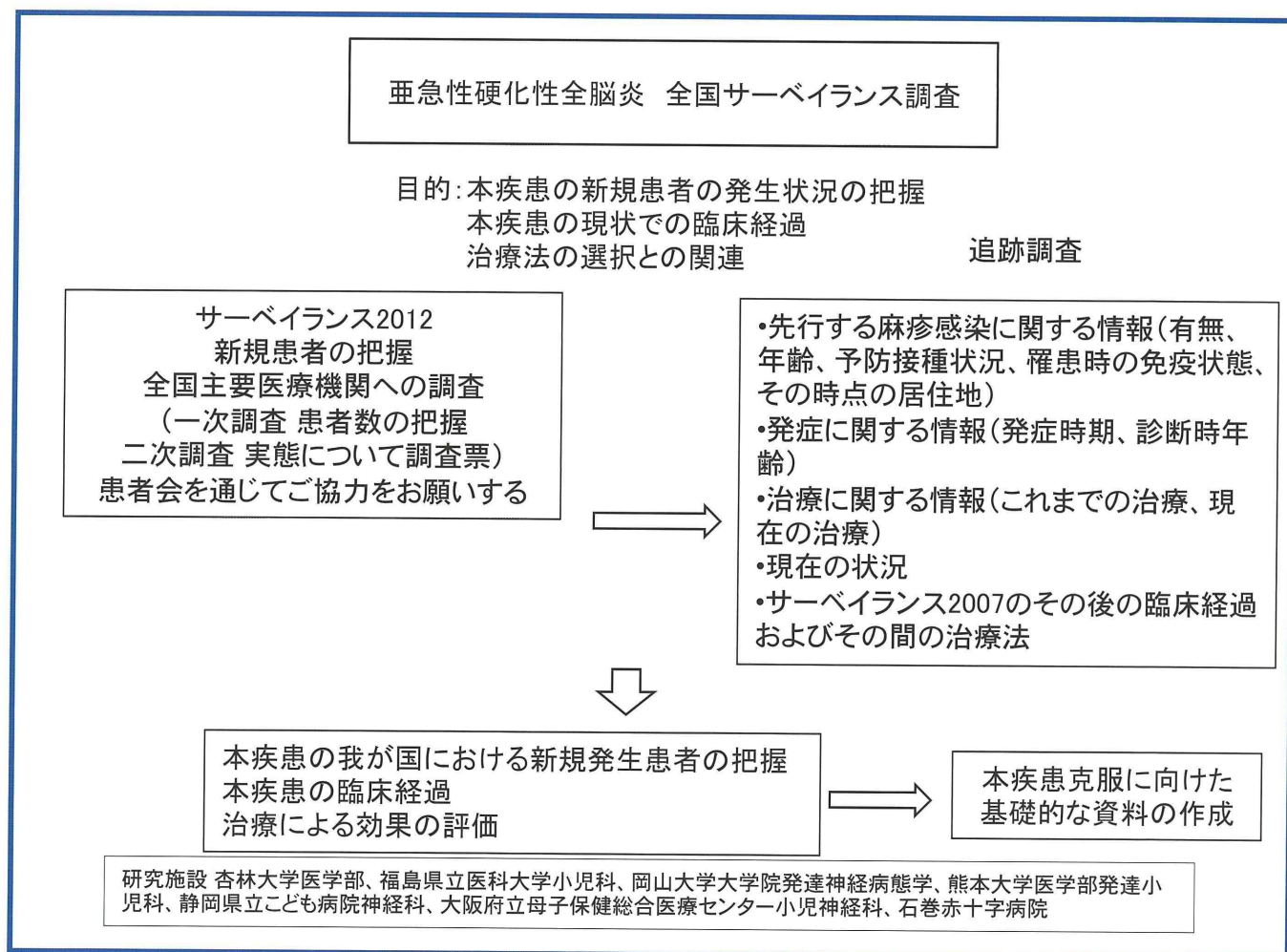
解説

1. 1歳未満で麻疹に罹患した群では、病状が進行する例が多かった。
2. 病状が進行する前に治療を開始できると、病状の進行を抑制する効果が見られた。

(臨床症状スコアが低い程、病状が良いことを表す。)

亜急性硬化性全脳炎の疫学調査

研究分担者：杏林大学医学部小児科 岡 明

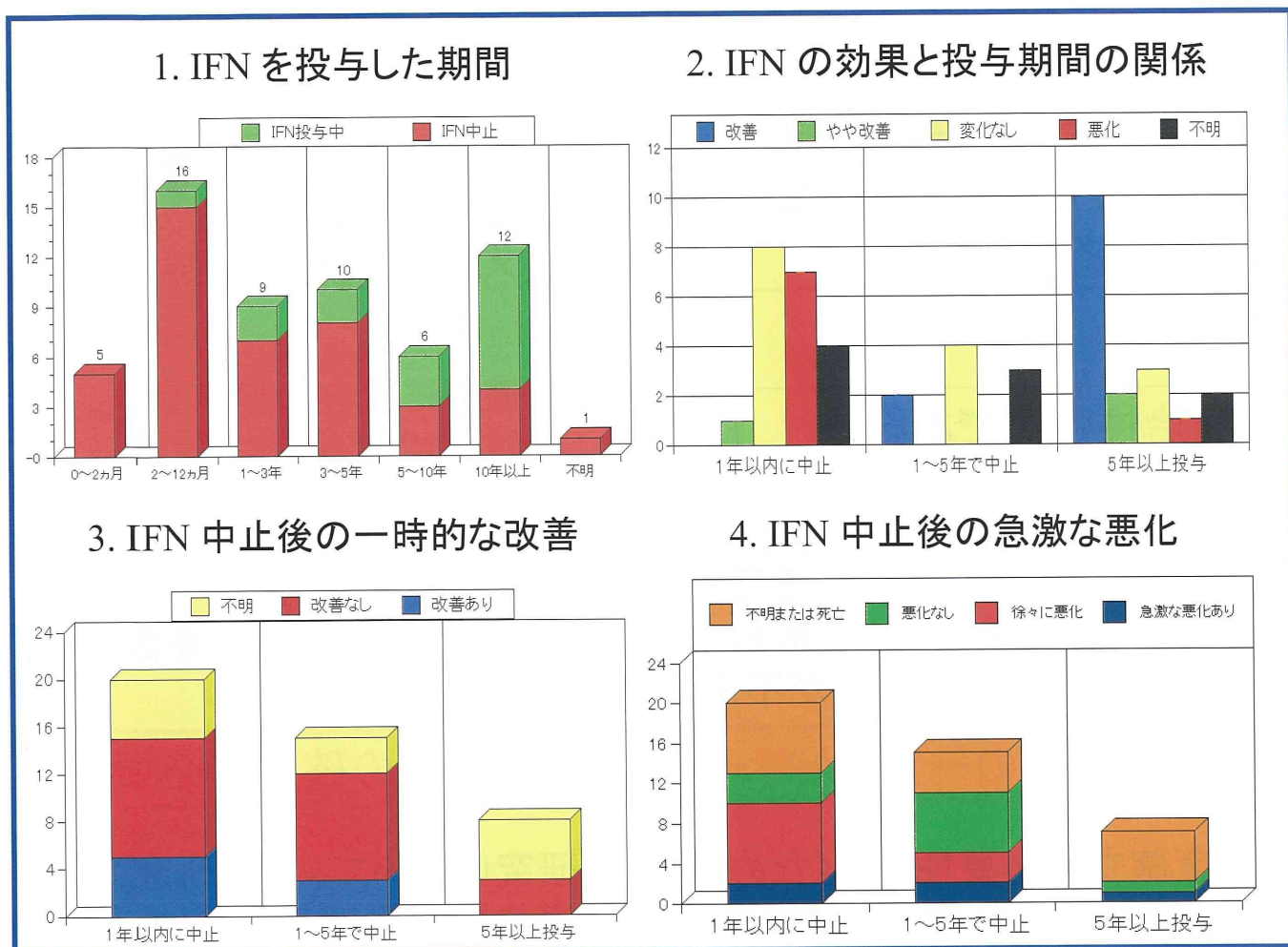


解 説

1. 我が国は依然として先進国で唯一の麻疹流行国であり、亜急性硬化性全脳炎の発生のリスクを抱えている。
2. 平成24年に本疾患のサーベイランス調査を行い、患者総数の把握、新規発生患者数の把握、現在の患者の臨床経過(自然史)、選択された治療による効果の評価を行う。

SSPEにおけるインターフェロン治療

研究分担者：静岡県立こども病院神経科 愛波秀男



解 説

1. SSPE青空の会の協力によりアンケート調査を行った。1985年以後にSSPEを発症した62例中59例でインターフェロン(IFN)の投与を行った。
2. 20例が1年以内、35例が5年以内にIFNを中止した。また12例が10年以上IFNを投与した。IFNにより一時的にでも症状が改善する程、長期間IFNを使用した。
3. IFN中止後8例で一時的な改善、5例で急激な悪化を認めた。

特定疾患治療研究事業データによる 亜急性硬化性全脳炎(SSPE)発生状況の把握

研究分担者: 国立感染症研究所感染症情報センター 多田有希

2012年までに麻疹排除
することが国家目標とし
て設定されている。



SSPEは麻疹の罹患により発生
する疾患であり、麻疹患者数に
終わらず、その後SSPE発生の
なくなることの確認が重要

難治性疾患である。



診療・療養に役立つ疫学状況、
臨床情報などを把握が重要

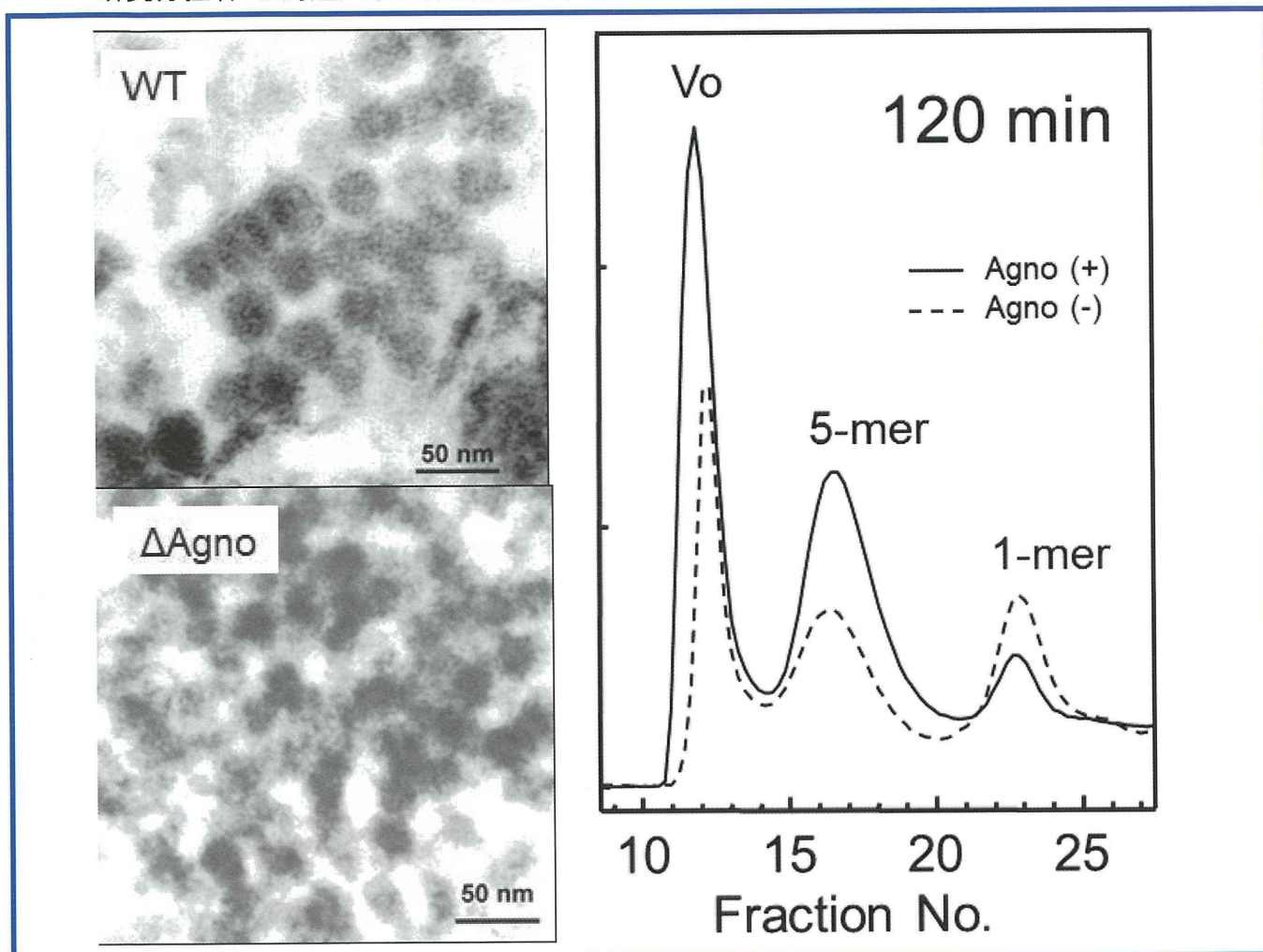
現状は、小児慢性特定疾患治療研究事業及び特定疾患治療研
究事業の対象として、ある程度の状況/情報把握は可能。
しかし、情報の欠落や、折角の情報の分散により、発生数を含
め、必要な情報の把握が不十分な状況。

国レベルでの一貫したサーベイランス制度の確立が必要

制度確立の必要性を説くためにも、本研究において、他の研究分
担者とともにアンケート調査等により、発生数等のSSPEの現状をで
きる限り正確に把握する。

JCウイルスのagnoproteinはウイルス粒子形成を促進する

研究分担者: 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 澤 洋文



解説

1. 左上: JCウイルスの電子顕微鏡写真: agnoproteinを有するJCウイルスはウイルス粒子が均一である。
2. 左下: JCウイルスの電子顕微鏡写真: agnoproteinを欠損したJCウイルスはウイルス粒子の大きさおよび形状が不均一である。
3. 右図: ゲル濾過法を用いたJCウイルスの外殻タンパク質VP1の多量体形成能の比較: agnoprotein存在下ではVP1の多量体形成が促進される。